

Aus der
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Herr Prof. Dr. med. P. Falkai

Einfluss von genetischen Polymorphismen im DKK3-Gen auf kognitive
Fähigkeiten

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Maria Priester, geb. Ditchewa

aus
Sofia, Bulgarien

2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. D. Rujescu

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Ortrud Steinlein

Mitbetreuung durch die
promovierte Mitarbeiterin: PDDr. Ina Giegling

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 07.05.2020

Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG	IV
1 EINLEITUNG	1
1.1 Definition der „Intelligenz“	1
1.1.1 Intelligenzmodelle	1
1.1.2 Messung der Intelligenz	3
1.1.3 Kritik am Intelligenzbegriff und an der Intelligenzmessung	5
1.2 Einflussfaktoren auf die Intelligenz.....	6
1.2.1 Anlage-Umwelt-Diskussion.....	7
1.2.2 Soziale und soziokulturelle Faktoren	7
1.2.3 Biologische Faktoren.....	8
1.2.4 Genetische Einflussfaktoren auf kognitive Funktionen.....	9
1.3 Wnt-Signalwege und die Gene der Dickkopf-Familie.....	12
1.3.1 Wnt-Signalwege	12
1.3.2 Dickkopf-Genfamilie	15
1.4 Dickkopf 3	18
1.4.1 DKK3 und Krebs	18
1.4.2 DKK3 und Kognition	19
1.5 Einfluss von SNPs auf Transkripton und Translation.....	21
2 FRAGESTELLUNG	22
3 MATERIAL UND METHODIK	23
3.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung.....	23
3.2 Studienteilnehmer	23
3.3 Studiendesign	23
3.4 Datenerhebung.....	24
3.4.1 Erfassung des Intelligenzstatus: HAWIE-R.....	24

3.4.2	Durchführung, Auswertung und Interpretation des HAWIE-R.....	27
3.4.3	Testgüte und Bewertung des HAWIE-R.....	28
3.5	Molekulargenetische Analysen	29
3.5.1	DNA-Extraktion	29
3.5.2	Bestimmung der DNA-Konzentration.....	31
3.6	Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY	33
3.6.1	Primerdesign.....	33
3.6.2	Multiplex-PCR zur Amplifizierung der SNPs und umgebenden Sequenzen	34
3.6.3	Dephosphorylierung der PCR-Produkte	35
3.6.4	<i>iPLEX</i> Primerextension	36
3.6.5	MALDI-TOF	38
3.7	Qualitätskontrolle.....	39
3.8	Statistische Datenauswertung	39
4	ERGEBNISSE.....	41
4.1	Stichprobe	41
4.2	Beschreibung der Polymorphismen	41
4.3	Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstude	42
4.3.1	Polymorphismus rs3206824	42
4.3.2	Polymorphismus rs7480000	46
5	DISKUSSION.....	50
6	LITERATURVERZEICHNIS	64
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	74
8	TABELLENVERZEICHNIS	77
9	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	79
	SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG.....	V
	DANKSAGUNG	VI

Zusammenfassung

Die menschliche Intelligenz ist ein komplexes Merkmal, das zu einem erheblichen Anteil genetisch bedingt ist. Zu diesem genetischen Anteil scheinen sehr viele verschiedene Gene und Genfamilien beizutragen.

Das DKK3-Gen ist ein Mitglied der DKK- (Dickkopf-) Familie, das den Wnt-Signalweg zu einem erheblichen Anteil beeinflusst. Es wirkt auf das embryonale Hirnwachstum wie auch auf die Organbildung und die Entwicklung verschiedener Gewebe ein. Erste Hinweise auf einen Einfluss von DKK3 auf Alzheimer-Demenz liegen vor.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, zwei *Single Nucleotide*-Polymorphismen (SNP) des DKK3-Gens (rs3206824 und rs7480000) auf ihren Zusammenhang mit kognitiven Leistungen an einer nicht-klinischen, deutschen Stichprobe zu untersuchen. Dazu wurde eine genetische Untersuchung an 2452 Probanden mit Bestimmung der Allel- und Genotypenfrequenzen sowie des Intelligenzniveaus mithilfe des HAWIE-R durchgeführt.

Mittels Varianzanalysen wurde ein statistischer Einfluss der Allel- und Genotypvarianten auf die Gesamtestleistung des HAWIE-R (Gesamt-IQ) sowie die Ergebnisse der elf Untertests geprüft. Zudem wurde ein potentieller Geschlechts-, Bildungs- und Alterseffekt als Moderatorvariable berücksichtigt.

Im Ergebnis fanden sich bei den meisten Berechnungen keine signifikanten Assoziationen oder Trends der Allele oder Genotypen mit den Intelligenztestleistungen, mit spezifischen Ausnahmen. Der Polymorphismus rs3206824 zeigte einen Trend zur Assoziation zum Untertest „Allgemeines Verständnis“. Der Polymorphismus rs7480000 zeigte sowohl bezogen auf die Allelformen als auch die Genotypen hochsignifikante Assoziationen zum Untertest „Zahlen nachsprechen“. Ob diese Unterschiede auf die Expression des DKK3 oder den Einfluss des Polymorphismus auf benachbarte Gene zurückzuführen sind, bleibt unklar.

Demnach konnte in dieser Studie eine Assoziation zur Allgemeinen Intelligenz nicht festgestellt werden, es liegen aber Hinweise darauf vor, dass DKK3 über Leistungsvorfeld- und Exekutivfunktionen wie Arbeitsgedächtnis und Aufmerksamkeit auf spezifische Intelligenzleistungen Einfluss nehmen könnte.

Diese Befunde sind für weitere Untersuchungen zum Einfluss des DKK3 im Bereich der dementiellen Erkrankungen von Bedeutung.

1 Einleitung

1.1 Definition der „Intelligenz“

Im Jahr 53 v. Chr. machte sich der römische Gelehrte Marcus Tullius Cicero Gedanken über die Intelligenz. Er definierte sie als Vermögen, welches den Geist befähigt, die Wirklichkeit zu verstehen. Er verwendete das Wort *intellegentia* und *intellectus* als die Fähigkeit, zu erkennen, als das Erkennen selbst und als gewonnene Erkenntnis (Müller, 2009). *Intellegere* umfasst mehrere Bedeutungen: erstens wahrnehmen und empfinden, zweitens einsehen, verstehen und begreifen, drittens sich auf etwas verstehen und viertens sich etwas denken, etwas beurteilen. Bereits in diesem Bedeutungsumfang ist der Interpretationsspielraum sichtbar, in welchem der Begriff der Intelligenz definiert und interpretiert werden kann.

Intelligenz ist auch ein Sammelbegriff für die sogenannten kognitiven Fähigkeiten. Der Begriff Kognition (lat. *cognitio*, Erkenntnis) ist ein übergeordneter Begriff für alle mit dem Erkennen zusammenhängenden Prozesse wie Wahrnehmung, Gedächtnis, Intelligenz, Lernen und Sprache, sowie alle Prozesse der Informationsverarbeitung (Pschyrembel, 2017). Zu den kognitiven Fähigkeiten werden beispielsweise Sprache und Sprachverständnis, Aufmerksamkeit, Gedächtnis, Denken und Problemlösung, räumliches und bildliches Vorstellungsvermögen sowie Wahrnehmung und Mustererkennung gezählt (Zimbardo und Gerrig, 2008).

1.1.1 Intelligenzmodelle

Versuche, „Intelligenz“ zu definieren, gibt es seit dem 19. Jahrhundert. Nach Spearmans (1904) Zweifaktorenmodell sind kognitive Leistungen auf einen gemeinsamen Intelligenzfaktor zurückzuführen, der als Generalfaktor „g“ bezeichnet wird. Daraus entwickelte Cattell (1963) ein Strukturmodell der Intelligenz, wobei er von zwei unabhängigen Komponenten ausging, der fluiden (gf) und der kristallinen (gc) Intelligenz. Die fluide Intelligenz stellt hierbei eine weitgehend angeborene bzw. vererbte Fähigkeit dar, welche die Anpassungsfähigkeit an neue Situationen beschreibt. Im Gegensatz dazu steht die kristalline Intelligenz, unter der alle durch bisherige Lernprozesse erworbenen Fähigkeiten verstanden werden. Sie ist mit Spearmans g-Faktor gleichzustellen und beinhaltet kultur-, wissens- und schulgebundenes Wissen sowie Denken (Stemmler et al., 2016).

Ein ähnliches Strukturmodell auf der Basis der Vorstellung eines allgemeinen Intelligenzfaktors wurde von Wechsler (1964) entwickelt. Sein Modell geht von einer allgemeinen Intelligenz g aus, die sich aus mehreren untergeordneten Fähigkeiten oder Faktoren zusammensetzt und in verbalorientiert sowie handlungsorientiert unterschieden wird. Dieses Modell ist

Grundlage des Hamburg-Wechsler-Intelligenztests für Erwachsene (HAWIE) bzw. für Kinder (HAWIK).

Thurstones (1938) Modell beruht dagegen auf der Auffassung, dass sich die Intelligenz aus mehreren gleichrangigen Faktoren zusammensetzt, die miteinander korrelieren können, aber unabhängig voneinander sind. Guilford (1967) veröffentlichte ein umfassendes Intelligenzstrukturmodell, das nicht von einem Generalfaktor oder mehreren untergeordneten Primärfaktoren, sondern explizit von einer Vielzahl unabhängiger und gleichwertiger Einzelfaktoren ausgeht. Er unterscheidet Denkinhalte, Denkvorgänge und Denkprodukte, die er in weitere Unterkategorien einteilt. Insgesamt ergeben sich aus diesem Intelligenzstrukturmodell 120 Kombinationsmöglichkeiten der unabhängigen Faktoren, welche die geistigen Fähigkeiten eines Individuums repräsentieren sollen.

Insbesondere im deutschsprachigen Raum wurde das Berliner Intelligenzstrukturmodell von Jäger (1982) bekannt, in welchem die Elemente von Spearman, Thurstone und Guilford verbunden werden. Der g-Faktor, welcher die allgemeine Intelligenz beschreibt, steht in seinem Modell an der Spitze. Ihm sind drei operative Fähigkeiten, figural-bildhaftes, numerisches und sprachliches Denken, sowie die vier inhaltsgebundene Fähigkeiten Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit, Merkfähigkeit, Einfallsreichtum und Verarbeitungskapazität untergeordnet.

Eine Definition von Intelligenz lieferte Gottfredson (1997):

“[Intelligence] ... involves the ability to reason, plan, solve problems, think abstractly, comprehend complex ideas, learn quickly and learn from experience. It is not merely book learning, a narrow academic skill, or test-taking smarts. Rather it reflects a broader and deeper capability for comprehending our surroundings – ‘catching on’, ‘making sense’ of things or ‘figuring out’ what to do. (S. 13)”

Diese Definition der Intelligenz ist auch derzeit noch die Arbeitsdefinition in vielen Publikationen zur Intelligenzforschung (z. B. Nisbett et al., 2012; Stern und Neubauer, 2016), wird aber aufgrund ihrer Beschränkung auf das Lernen und das Lösen von Problemen kritisiert (z. B. Prinsloo und Barrett, 2013). Auch diese Definition, die vor allem durch die Beschreibung der Punkte gekennzeichnet ist, die nicht unter dem Begriff der Intelligenz verstanden werden sollen, zeigt, welche Schwierigkeiten die Psychologie bis heute hat, das Phänomen der Intelligenz umfassend und unmissverständlich zu erklären.

1.1.2 Messung der Intelligenz

Intelligenz wird als eine latente Variable aufgefasst, die nicht direkt messbar ist, sondern für die geeignete, manifeste, messbare Variablen (Indikatoren) gefunden werden müssen. Eine der ersten Intelligenzmessung wurde von Binet und Simon (1905) zur Einstufung der Leistungsfähigkeit von Schulkindern veröffentlicht. Dieser Test umfasste 30 nach Schweregrad gestaffelte Aufgaben. Bei der Berechnung des Testergebnisses wurde das Konzept des Intelligenzalters verwendet. Die Intelligenz berechnete sich zunächst aus dem Intelligenzgrundalter (Altersklasse, in der alle Aufgaben gelöst wurden) plus $\frac{1}{5}$ Jahr je Aufgabe, die von den Aufgaben höherer Altersklassen gelöst wurden. Die Teststaffel verbreitete sich nach Revision und Standardisierung durch die Universität Stanford („Stanford-Binet-Test“) rasch und wird bis heute angewendet (z.B. Davies und Piovesana, 2015).

In der deutschen Schule der Entwicklungspsychologie um Stern und Bühler wurden durch die systematische Beobachtung von kindlichem Verhalten verschiedene Hypothesen zur Entwicklung der Intelligenz aufgestellt. Von Stern (1912) stammt der noch heute verwendete Begriff des Intelligenzquotienten (IQ), welcher die Berechnung des Intelligenzgrundalters verdrängte. Er wurde definiert als Intelligenzalter geteilt durch Lebensalter multipliziert mit 100. Der Mittelwert des Intelligenzquotienten liegt bei 100. Durch die Definition des Intelligenzquotienten wurde es erstmals möglich, verschiedene Personengruppen zu vergleichen. Da das Intelligenzalter jedoch im Vergleich zum Lebensalter nicht stetig zunimmt, konnte mit diesem Messverfahren bei zunehmendem Alter keine Konstanz der Intelligenzleistung erreicht werden (Stemmler et al., 2016).

Diese Schwäche wurde durch die Einführung des Abweichungs-Intelligenzquotienten durch Wechsler (1958) gelöst. Hierbei werden die individuellen Leistungen jeweils mit dem Leistungsmittelwert der entsprechenden Altersgruppe verglichen. Er legte ebenso wie Stern den Wert der durchschnittlichen, altersgerechten Intelligenz mit 100 fest, wobei er von einer Normalverteilung des Merkmals Intelligenz in der Population ausging. Die Durchschnittswerte der Intelligenz (68 % der Bevölkerung) liegen damit zwischen 85 und 115. Diese Intelligenzwerte haben sich allgemein verbreitet und werden bis heute in den weitaus meisten der aktuellen Intelligenztests berechnet, auch wenn diese von anderen Intelligenzmodellen ausgehen.

Die nationalen Versionen des Wechsler-Tests werden in ihren revidierten und aktualisierten Fassungen bis heute angewendet. Sie folgen dem hierarchischen Intelligenzmodell von Wechsler (1964), nach dem mehrere Standardwerte für die spezifischen Aufgaben in einem Intelligenzprofil erstellt und Intelligenzquotienten für handlungsbezogene und verbale Intelli-

genz sowie ein Gesamt-IQ errechnet werden können (Zimbardo und Gerrig, 2008). Seit 2012 liegt WAIS-IV, die aktuellste Version des Wechsler-Tests, vor (Petermann, 2012).

Neben den Wechsler-basierten Tests ist der Matrizentest nach Raven (1971) verbreitet, der Aussagen zum Intelligenzniveau und zum figural-räumlichen Denken erlaubt. Cattells (1963) Modell der fluiden und kristallinen Intelligenz ist aktuell in keinem spezifischen Test fortgeführt worden. Die fluide Intelligenz lässt sich anhand von Matrizenaufgaben wie dem Raven-Test oder anderen Aufgaben zum räumlich-figuralen Denken schätzen (z. B. mit „Mosaik-Test“ oder „Zahlen-Symbol-Test“), während die kristalline Intelligenz durch Wortschatz- und Allgemeinwissenstests sowie Rechenaufgaben gemessen werden kann (Wechsler, 1958; z. B. durch die Untertests „Allgemeines Wissen“, „Wortschatz-Test“, „Rechnerisches Denken“).

Auf der Grundlage des Faktorenmodells von Thurstone (1938) wurden Intelligenztests entwickelt, welche die sieben Faktoren in einzelnen Subtests so erfassen, dass die Korrelationen untereinander möglichst gering ausfallen. Diese sieben Faktoren sind (Stemmler et al., 2016):

- v: verbal comprehension – Kenntnis von Wörtern und ihrer Bedeutung sowie deren angemessene Verwendung im Gespräch.
- w: word fluency – rasches Produzieren von Wörtern, die bestimmten strukturellen oder symbolischen Erfordernissen entsprechen.
- n: number – Geschwindigkeit und Präzision bei einfachen arithmetischen Aufgaben.
- s: space – Bewältigung von Aufgaben, die räumliches Vorstellen und Orientieren sowie das Erkennen von Objekten unter einem anderen Bezugswinkel erfordern (der Faktor untergliedert sich entsprechend dieser Beschreibung häufig in zwei oder drei speziellere s-Faktoren).
- m: memory (associative) – Behalten paarweise gelernter Assoziationen.
- p: perceptual speed – Geschwindigkeit beim Vergleich oder bei der Identifikation visueller Konfigurationen.
- i: induction oder r: reasoning, general – schlussfolgerndes Denken im Sinne des Auffindens einer allgemeinen Regel in einer vorgegebenen Abfolge von Zahlen oder Symbolen und Anwendung derselben bei der Vorhersage des nächstfolgenden Elementes. Verschiedenen Untersuchungen zufolge liegt bei r der Akzent auf arithmetischen Problemen.

Typische Beispiele für Intelligenztests nach dem Modell von Thurstone sind der Intelligenzstrukturtest 2000R (IST-2000R; Liepmann et al., 2007) sowie das Leistungsprüfsystem (LPS-2) nach Horn (Kreuzpointer et al., 2013). Mit ihnen ist die Erfassung eines differenzierten

Intelligenzprofils sehr gut möglich und sie sind beispielsweise die Vorbilder für Schullaufbahn- und Berufseignungstests. Ein Gesamtwert des intellektuellen Leistungsvermögens war hier zunächst nicht vorgesehen und wird in diesen Tests als ein Durchschnittswert aller Subtests berechnet (Stemmler et al., 2016). Die Frage, welches Modell bzw. welcher Test angewendet wird, ergibt sich aus der Aufgabenstellung oder nach den Anwendungstraditionen der jeweiligen Forschungsrichtung.

1.1.3 Kritik am Intelligenzbegriff und an der Intelligenzmessung

Die bisherige Intelligenzforschung war von Beginn an vorrangig auf die Interessen angewandter Fragestellungen z. B. die leistungsbezogene Auslese von Schülern oder Soldaten ausgerichtet, sodass eine theoretische Fundierung zunächst ausblieb (Stemmler et al., 2016). Auch heute bestehen die Ideen eines Generalfaktors der Intelligenz nach Spearman und die Idee eines zusammengesetzten Konstruktes Intelligenz mit unabhängigen Faktoren nach Thurstone nebeneinander. Faktoranalysen konnten beide Modelle bestätigen, allerdings ist dies auch auf den Einfluss unterschiedlicher Methoden, Stichproben und Prüfverfahren zurückzuführen, die in den jeweiligen Studien angewandt wurden. So nutzten Thurstone und Thurstone (1941) leistungsstarke und -homogene studentische Stichproben zur Prüfung ihrer Hypothesen. Im Gegensatz zu leistungsmäßig breiter gefächerten Stichproben kann auf diese Weise die Varianz eingeschränkt werden, was dazu führt, dass die Korrelationen zwischen den Messwertreihen geringer ausfallen (Stemmler et al., 2016).

Die neueren, hierarchischen Intelligenzmodelle bieten zwar eine gute theoretische Grundlage zur ganzheitlichen Betrachtung und Erklärung von kognitiven Fähigkeiten, allerdings sind diese Modelle weitaus schwieriger zu operationalisieren, da die Vielzahl der aufgeführten Faktoren kaum in praktikable Intelligenztests einzubeziehen sind. Zudem stellte sich das Modell von Thurstone in nachfolgenden Untersuchungen als robuster heraus als später formulierte Modelle (Stemmler et al., 2016), sodass diese sieben Faktoren auch aktuell zur Beschreibung intelligenten Verhaltens herangezogen werden.

Eine generelle Kritik wurde hinsichtlich der Kulturabhängigkeit der Intelligenztests geäußert. Diskussionen, nach denen Afroamerikaner oder Angehörige nicht westlicher Kulturen einen geringeren IQ aufweisen, wurden bereits im 19. Jahrhundert geführt, sind aber auch in den letzten Jahrzehnten wieder vermehrt publiziert worden (z. B. Herrnstein und Murray, 1994). Dies liegt vor allem daran, dass die IQ-Tests für die Bevölkerung in den westlichen Industrienationen entwickelt wurden. So wird in diesem Kulturkreis beispielsweise das Sprachverständnis priorisiert und in Wortschatztests Synonyme abgefragt. Die Bewertung der sprachlichen Intelligenz beruht damit auf der verwendeten Sprache selbst. Bietet diese nur wenige synonym verwendbare Begriffe in einem Wortfeld, attestiert ein entsprechend nicht ange-

passter und lediglich übersetzter IQ-Test eine nur geringe sprachliche Intelligenz. Auf der anderen Seite wäre beispielsweise eine Deutsch sprechende Person mit einem IQ-Test überfordert, der die unterschiedlichen Bezeichnungen für „Schnee“ aus dem Finnischen abfragt. Im Gegensatz zum Deutschen kennt das Finnische viele Bezeichnungen, die zusätzlich vom Wind, der Temperatur und der Höhe der Schneedecke abhängen. Somit sind diese scheinbaren Unterschiede in der Intelligenz teilweise auf die Umgebung zurückzuführen, in denen sich Mitglieder der einzelnen Kulturen bewegen (Nisbett et al., 2012). Das liegt damit vor allem daran, dass die IQ-Tests für einen bestimmten Kulturkreis entwickelt wurden und damit die spezifischen Fähigkeiten mit unterschiedlichen Prioritäten beurteilen. Dennoch gibt es Hinweise darauf, dass in verschiedenen Ethnien Unterschiede vorhanden sind, die auf genetische Variationen zurückgeführt werden könnten. So könnten Mutationen im Klotho-Gen, das in seiner normalen Form vor einer vorzeitigen Alterung des Gehirns schützt, zu einer milden geistigen Behinderung durch einen verfrühten Alterungsprozess führen, wenn diese in einer Ethnie gehäuft vorkommen (Abulizi et al., 2017).

Mit der Konstruktion eines Culture Fair Intelligence Test versuchte Cattell dem Umstand zu begegnen, dass insbesondere verbal oder mathematisch orientierte Intelligenztests Kulturprodukte und -techniken transportieren (Cattell und Cattell, 1963). Dieser sprachfreie Grundintelligenztest ist noch heute verbreitet (z. B. CFT 20-R; Weiß, 2006) und misst ähnlich wie der Matrizen-Test von Raven zuverlässig schlussfolgerndes Denken im räumlich-figuralen Bereich. Doch auch bei diesen Tests wurden kultur- und schichtabhängige Unterschiede in den Ergebnissen festgestellt (Ardila, 2018). Der kulturelle Hintergrund, die Dauer der Schulbildung oder das Land, in dem die Schulausbildung der Versuchspersonen stattgefunden hat, muss daher bei der Interpretation der Ergebnisse von Intelligenztestungen immer berücksichtigt werden (Krch et al., 2015).

1.2 Einflussfaktoren auf die Intelligenz

Inwieweit menschliche Eigenschaften durch die biologischen Anlagen oder durch den Einfluss äußerer Gegebenheiten beeinflusst werden, wird seit Beginn des 20. Jahrhunderts intensiv diskutiert. Durch die technischen und wissenschaftlichen Fortschritte, die genetische Studien ermöglicht haben, rückten die Erforschung des Genoms und die differenzierte Betrachtung seines Einflusses auf verschiedenste menschliche Eigenschaften, auch auf die Intelligenz, wieder stärker in den Fokus. Sowohl anlage- als auch umweltbedingte Einflüsse, aber auch die Selbststeuerung des Individuums wirken gemeinsam auf die Ausbildung der Intelligenz ein (Stemmler et al., 2016). Empirische Studien versuchen, die Wirkungskreise der verschiedenen Faktoren zu differenzieren und die Höhe der Zusammenhänge, mögliche Wechselwirkungen und die Frage potenzieller Einflussfaktoren auf diese Wirkungen zu ermit-

teln, beispielsweise anhand von Vergleichen sozialer Schichten oder an Adoptivkindern (Nisbett et al., 2012).

1.2.1 Anlage-Umwelt-Diskussion

Die Differenzierung von anlage- und umweltbedingten Einflüssen auf die Intelligenz kann u. a. durch Zwillingsstudien erfolgen. Ein erheblicher Teil der beobachtbaren Ähnlichkeiten von Eigenschaften innerhalb einer Familie können zwar auf die gemeinsamen Anlagen zurückgeführt werden, da Familien aber auch gemeinsame Umwelten teilen, könnten diese Ähnlichkeiten auch auf gleiche Anregungsbedingungen oder Milieuspezifika zurückgehen. Im Vergleich von Zwillingen sollten die dort stärker als bei „normalen“ Geschwistern ausgeprägten Ähnlichkeiten durch die genetischen Anlagen verursacht sein. Allerdings teilen Zwillinge auch häufiger als andere Geschwister gemeinsame Umwelten, sie werden z. B. gleichbehandelt, besitzen gleiche Äußerlichkeiten, gehen in die gleiche Klasse usw. Insofern bieten sich Vergleiche zwischen eineiigen und zweieiigen Zwillingspaaren an, da auf diese Weise die Umwelteinflüsse noch geringer ins Gewicht fallen. In der Untersuchung von Newman und seinen Mitarbeitern (Newman et al., 1998) lagen die Übereinstimmungen der Gesamt-IQs bei eineiigen Zwillingen bei 75 %, bei zweieiigen Zwillingen nur bei 47 %.

Auch Adoptionsstudien wurden bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts durchgeführt. Sie führten zur folgenden Bewertung der Einflüsse von genetischer Ausstattung und Umwelt: Es gibt einen mittelhohen bis hohen Erbanteil bei der Ausformung der allgemeinen Intelligenz, darüber hinaus aber auch einen deutlichen Einfluss der von den Kindern geteilten oder nicht geteilten Umwelt. Dieser Umwelteinfluss reduziert sich allerdings im Erwachsenenalter wieder zugunsten der erblichen Komponente (Stemmler et al., 2016). Bereits die Arbeitsgruppe um Deary (Deary et al., 2010) schätzt die Heritabilität von Intelligenz in der frühen Kindheit auf nur etwa 30 %, diese nimmt im Verlaufe des Erwachsenenalters auf 70–80 % zu. Insgesamt wird die Abhängigkeit der Intelligenz von genetischen Faktoren auf zwischen 50 % und 80 % geschätzt (Kirkpatrick et al., 2014).

1.2.2 Soziale und soziokulturelle Faktoren

Ein Lern- und Fördereffekt im Kindesalter kann sich in einer Erhöhung des IQ ausdrücken, etwa nach einer Adoption (Stemmler et al., 2016). Unterschiedliche Förderbedingungen können in unterschiedliche intellektuelle Niveaus münden, was Befunde der Geschwisterforschung zeigen. Bei weißen, mehrköpfigen Familien konnte ein IQ-Abfall von mehreren Punkten über die Geschwister festgestellt werden, wobei der oder die Erstgeborene das höchste, der oder die Letztgeborene das geringste Niveau hatte (Belmond et al., 1975). Erklärt wird dies durch die Vorbild- und Lehrerfunktion, die Erstgeborene häufig ausüben, sowie den unterschiedlichen Grad an Aufmerksamkeit und Förderung durch die Eltern. Einzelkinder haben

im Vergleich zu Geschwisterkindern nicht höhere, sondern mittlere Intelligenzwerte (Stemmler et al., 2016).

1.2.3 Biologische Faktoren

Neben diesen eindeutigen Umweltfaktoren, die nach der Geburt zum Tragen kommen, konnte auch eine Reihe biologischer Faktoren identifiziert werden, die sich direkt oder indirekt auf das intellektuelle Fähigkeitsniveau auswirken. Diese sind auf der körperlichen Ebene wirksam, sind jedoch, anders als genetische Faktoren, nicht als Anlage- sondern ebenfalls als Umweltfaktoren einzuordnen. Zu diesen biologischen Faktoren zählen Drogen- und Alkoholkonsum während der Schwangerschaft. Bei der Alkohol-Embryopathie (AE) können das zentrale Nervensystem wie auch andere innere Organe geschädigt sein. Ein wesentliches Merkmal der AE besteht in der Mikrozephalie oder Mikroenzephalie. Damit direkt und/oder indirekt in Zusammenhang stehen kognitive Defizite bis hin zur geistigen Behinderung. Häufig kann auch eine Verminderung von Leistungsvorfeldfunktionen beobachtet werden. Dazu zählen eine lange Reaktionszeit, eine geringe Aufmerksamkeitsleistung, Hyperaktivität, Aggressivität, Teilleistungsstörungen u. Ä., die sich wiederum negativ auf das Intelligenzniveau auswirken (Lebel et al., 2012).

Auch der Ernährungsstatus in der frühen Kindheit wurde als Kriterium für die Ausbildung der Intelligenz herangezogen. Während der pränatale Ernährungsstatus einen widersprüchlichen Einfluss auf die spätere Entwicklung hat (Justin Cook und Fletcher, 2015), können postnatale Ernährungsmängel durchaus zu intellektuellen Beeinträchtigungen führen (Waber et al., 2014). Bei einer Behebung der Unterernährung, z. B. durch Adoption der Kinder, können diese Defizite teilweise korrigiert werden (Winick et al., 1975; Rutter, 1998). Weiterhin gilt Jodmangel in der Schwangerschaft und der frühen Kindheit als einer der gravierendsten Auslöser für eine verminderte Intelligenz (Velasco et al., 2018).

Ein weiterer biologischer Faktor, der jahrzehntelang in seinem Einfluss auf Intelligenz diskutiert wurde, ist das Geschlecht. Zwar finden sich keine Unterschiede zwischen Männern und Frauen bei den Werten der allgemeinen Intelligenz, aber bei einigen spezifischen Tests lassen sich regelmäßig signifikante Unterschiede nachweisen (zuletzt Liu und Lynn, 2015). So schneiden männliche Probanden in Tests zum räumlichen Vorstellungsvermögen etwas besser ab, Frauen sind dagegen in verbal orientierten Tests besser. Weiterhin ist die Varianz nach oben und unten bei Männern größer, es finden sich sowohl mehr hochbegabte als auch mehr minderbegabte Männer als Frauen (Deary et al., 2010).

Mithilfe bildgebender Verfahren (MRT) konnten auch wichtige Hirnareale *in vivo* identifiziert werden (Snow, 2016). So fanden sich auch Zusammenhänge zwischen Intelligenz und der Größe jeweils des frontalen, des parietalen und des temporalen Cortex sowie des Hippo-

campus (McDaniel, 2005). Ebenso ließen sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der intellektuellen Leistungsfähigkeit und der Gesamtmenge an grauer Substanz und ein etwas geringerer Zusammenhang mit der weißen Substanz nachweisen (Narr et al., 2007). Jüngste Untersuchungen zeigen, dass die Komplexität der dendritischen Zellen für den IQ mit verantwortlich ist (Genç et al., 2018).

1.2.4 Genetische Einflussfaktoren auf kognitive Funktionen

Die kognitive Funktion „Aufmerksamkeit“ ermöglicht zielführende Handlungen, wobei sensorische und emotionale Informationen integriert werden (Knudsen, 2007). Die Aufmerksamkeitssteuerung wird auf neurophysiologischer Ebene vorrangig durch die cholinergen Transmissionsbahnen übernommen, insbesondere über die Leitungen in den präfrontalen Cortex. Acetylcholine sind an der Regulation vieler kognitiver Funktionen beteiligt (Bloem et al., 2014).

Bei der Klärung genetischer Ursachen für die Aufmerksamkeitsstörungen bei ADHS und Autismus wurden Kandidatengene nachgewiesen, die an der Entwicklung, Aufrechterhaltung oder Modulation der Synapsen der entsprechenden Transmittersysteme beteiligt sind, wie z. B. NRX1 (Neurexin I), CNTN4 (Contactin 4), DCLK2 (Doublecortin-like Kinase 2), CNTNAP2 (Contactin assoziiertes Protein like 2), TRIM32 (Tripartite Motif Containing 32), ASTN2 (Astrotactin 2) und CNTN5 (Contactin 5), sowie Gene, welche die Neurotransmission direkt beeinflussen, wie Gamma-Aminobuttersäure Typ A Rezeptor $\gamma 1$ Untereinheit (GABRG1) und cholinergischer Rezeptor nikotinische Untereinheit $\alpha 4$ (CHRNA4) (Lo-Castro und Curatolo, 2014). CHRNA4 beeinflusst das cholinerge System und hat damit sowohl Einfluss auf Aufmerksamkeitsleistungen als auch auf die Intelligenzleistungen (Sadaghiani et al., 2017).

Die Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit ist ein Indikator der Schnelligkeit der zentralnervösen Prozesse (Peng et al., 2012). Anhand dieser lassen sich basale kognitive Störungen abbilden. So ist die Verarbeitungsgeschwindigkeit bei Demenz bereits im Frühstadium signifikant verringert (De Jager et al., 2003). Die Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit besitzt gemeinsame genetische Faktoren mit anderen Exekutivfunktionen, wie z. B. dem Arbeitsgedächtnis (Ogata et al., 2014).

Auch wenn der hohe Anteil an Erbllichkeit der Intelligenz gezeigt werden konnte, ergibt sich in genetischen Untersuchungen bislang kein eindeutiges Bild. Es existieren zwar einige genetisch eindeutig vererbte Erkrankungen, die mit kognitiven Minderleistungen einhergehen, wie Trisomie 21 oder Phenylketonurie, eine eindeutige Zuordnung der Intelligenzleistung zu einem einzelnen Kandidatengen oder Genabschnitt ließ sich demgegenüber aber nicht nachweisen. Es muss von einem multigen bedingten Merkmal ausgegangen werden. Wenn eine Eigenschaft durch mehrere Gene bestimmt wird, wird von einem quantitativen Merkmal

gesprochen (quantitative trait); das entsprechende Gen, das ein solches quantitatives Merkmal mitbestimmt, wird als *quantitative trait locus* (QTL) bezeichnet (Plomin und Deary, 2015).

Die Arbeitsgruppe um Trampush identifizierte 2017 mit Hilfe einer genomweiten Assoziationsstudie zwei Loci, die mit der Kognition signifikant in Verbindung stehen (Trampush et al., 2017). Weiterhin wurde im Jahr 2018 eine genomweite Metaanalyse veröffentlicht, in der weitere Assoziationen zwischen Genen und der Intelligenz gezeigt wurden (Savage et al., 2018). Es konnten 205 Genloci mit 1016 Einzelgenen identifiziert werden. Die meisten der Kandidatengene werden im Gehirn exprimiert, wobei die mittelgroßen dornentragenden Projektionsneurone (medium spiny neurons), und die Pyramidenzellen CA1 und SS die eigentlichen Orte der Expression sind.

Darüber hinaus wurde eine Vielzahl von Genen beschrieben, die einen Einfluss auf autosomal rezessive geistige Beeinträchtigungen haben können (zusammengefasst in Khan et al., 2016). Die Beeinflussung der Intelligenzleistung durch genetische Faktoren kann am Beispiel einer Punktmutation in der Catechol-O-Methyltransferase (COMT) gezeigt werden. Träger des SNP Val158Met, der präfrontale Dopaminbahnen beeinflusst, sind prädestiniert für Spiel- und Alkoholsucht (Guillot et al., 2015). Weiterhin spielt COMT eine Rolle bei der sprachgebundenen Intelligenz (Xu et al., 2018).

Ein Forschungsstrang konzentriert sich hierbei auf die Identifizierung von Kandidatengenen bzw. funktionalen Polymorphismen und deren Allele mit Bezug auf Neurotransmittersysteme bzw. andere Botensysteme, die mit der Ausprägung der Leistungen in Zusammenhang stehen könnten. Dahinter steht die Annahme, dass Gene über verschiedene Wege Einfluss nehmen können, wie z. B. über die Veränderung von Rezeptoren, durch Veränderungen an den Transmittern und Transmitterwegen sowie über neuroprotektive Vorgänge (Greenwood und Parasuraman, 2003; Abbildung 1, Seite 11).

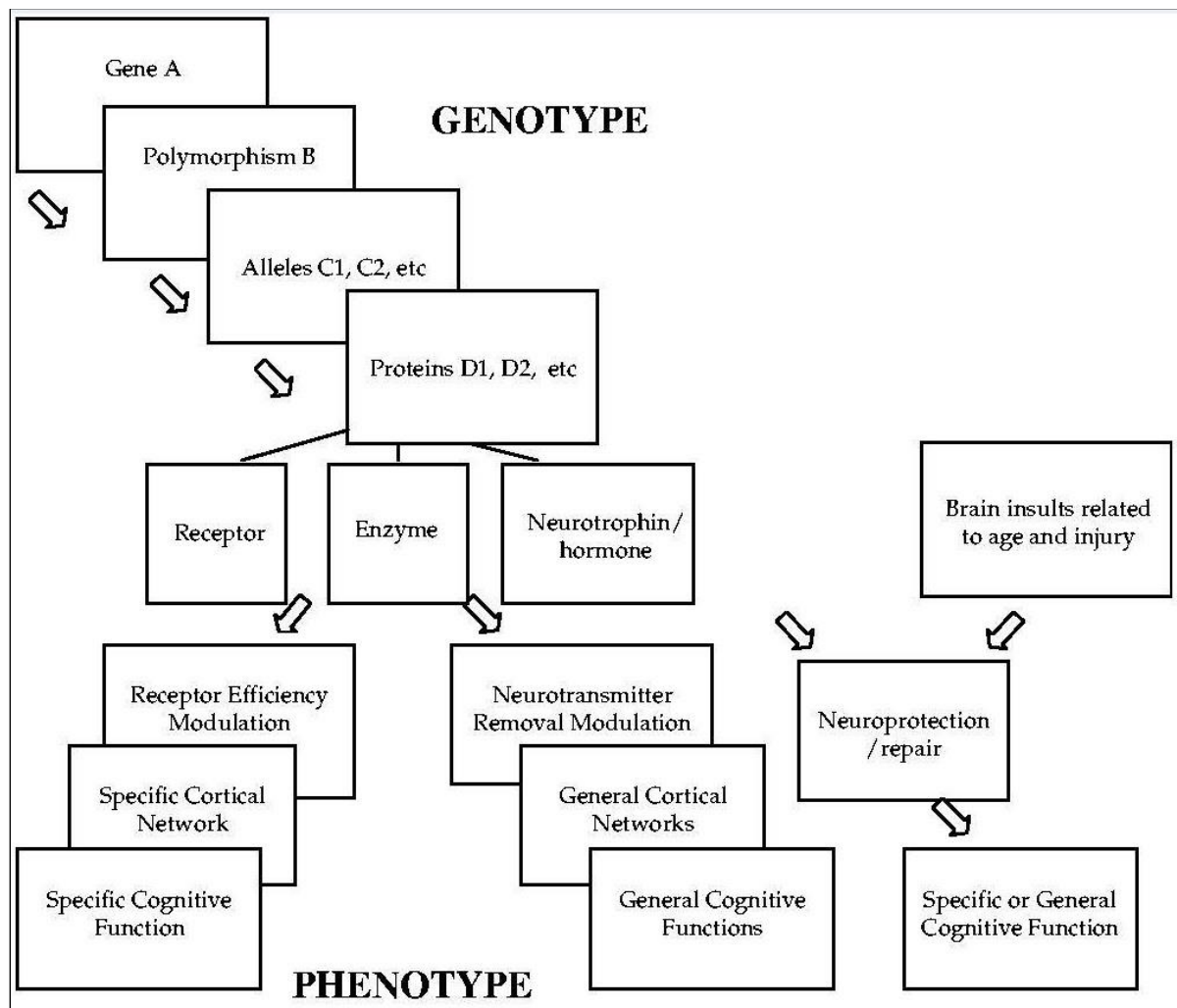


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen einem hypothetischen Gen und einer messbaren Verhaltensweise als Ausdruck kognitiver Funktionen und mögliche Zwischenschritte zwischen Genotyp und Phänotyp (Greenwood und Parasuraman, 2003)

Weitere Hinweise auf die Natur der Gene, die für die individuelle Ausprägung der Intelligenz verantwortlich sind, bieten genomweite Assoziationsstudien (GWAS). Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2017 identifizierte 18 voneinander unabhängige Genloci mit 336 SNPs. Die funktionelle Annotation der SNPs zeigte allerdings, dass ein erheblicher Teil der SNPs intronisch lokalisiert ist und damit möglicherweise keinen direkten Einfluss auf die Sequenz des codierten Genprodukts hat. Für SNP rs12928404 in einem Intron von ATXNL2 (Ataxin like 2) konnte gezeigt werden, dass damit die Expression einer Vielzahl anderer Gene reguliert wird (Sniekers et al., 2017).

1.3 Wnt-Signalwege und die Gene der Dickkopf-Familie

Ein wichtiger Signalweg bei der Embryonalentwicklung ist der Wnt-Signalweg (Wingless und Integrator 1), der in eine Vielzahl von Prozessen eingebunden ist. Dazu zählen auch neuronale Verbindungen und die Ausbildung von Synapsen. Die Wnt-Proteinfamilie besteht bei den Säugetieren aus 19 Mitgliedern und mehr als 15 Rezeptoren und Co-Rezeptoren. Weiterhin gibt es eine Reihe von sekretierten Antagonisten, welche die Aktivität des Signalweges modifizieren. Dazu zählen neben Cerberus auch die Proteine der Dickkopf-Familie (Oliva et al., 2013).

Ein Einfluss der Wnt-Signalleitungen auf die Leistungen des Arbeitsgedächtnisses und die Verarbeitungsgeschwindigkeit erfolgt über deren Rolle bei der Entwicklung der neuronalen Systeme sowie bei der Neuroplastizität des Hippocampus im Erwachsenenalter (Varela-Nallar und Inestrosa, 2013). Einige psychiatrische und neurologische Erkrankungen werden mit dem Einfluss der Wnt-Signalwege in Verbindung gebracht (Hoseth et al., 2018). Dazu zählen unter anderem bipolare Störungen, Autismus und Schizophrenie (Oliva et al., 2013).

Neurodegenerative Prozesse werden besonders mit dem Wnt-Antagonisten, dem Dickkopf1-Gen (DKK1), in Verbindung gebracht. Die Blockade des Signalwegs durch DKK1 führt zu einer raschen Auflösung synaptischer Verknüpfungen, vor allem bei Morbus Parkinson (Dickins und Salinas, 2013). Diese Erkrankung ist durch eine Verminderung verschiedenster kognitiver Funktionen und Prozesse wie auch der Arbeitsgeschwindigkeit und Gedächtnisprozesse gekennzeichnet.

1.3.1 Wnt-Signalwege

Wnt-Signalwege bezeichnen spezielle zelleigene Pfade zum Austausch von molekularen Signalen. Die Wnt-Signalwege nehmen Schlüsselpositionen bei der Zellentwicklung und Embryogenese ein (Wiese et al., 2018). Sie sind zu einem sehr frühen Zeitpunkt in die neuronale Entwicklung involviert, wobei sie die neuronale Plastizität steuern (Inestrosa und Varela-Nallar, 2015).

Beim Menschen wurden bisher 19 verschiedene Wnt-Signalproteine und zehn verschiedene Frizzled-Rezeptoren (Rezeptoren der Wnt-Signalproteine) identifiziert (Wiese et al., 2018). Die Kombination der Wnt-Liganden und der Rezeptoren ist entscheidend dafür, welcher Signalweg aktiviert wird. Sekretierte extrazelluläre Faktoren, wie z. B. Mitglieder der SFRP- und der WIF-Familie, wirken auf alle Wnt-Signalwege ein. Ihre Wirkung ist zumeist inhibierend, d. h., sie können die Bindung von Wnt-Liganden an die Rezeptoren verhindern, die Signalwege aber auch aktivieren, indem sie Wnt-Liganden vor der Degradation oder beim Transport

schützen. Proteine der Dickkopf-Familie (DKK) zählen zu diesen Faktoren (Sharma et al., 2015).

Entsprechend den unterschiedlichen Kombinationen von Signalträgern wurden bisher drei spezifische Wnt-Signalwege identifiziert (Bengoa-Vergniory und Kypta, 2015). Neben dem kanonischen, β -Catenin abhängigen Wnt-Signalweg existieren mindestens zwei nicht kanonische, d. h. von β -Catenin unabhängige, Wnt-Signalwege, der Wnt/PCP-Signalweg (PCP = *planar cell polarity*, Zellmorphogenese) und der Wnt/ Ca^{2+} -Signalweg (Apoptose und Migration), wobei beide in die Aktin-Polymerisation des Zytoskeletts eingreifen (Song et al., 2015).

Der Wnt/PCP-Signalweg (PCP = *planar cell polarity*) reguliert die planare Zellpolarität und wird mit Zell- und Gewebedifferenzierungen in verschiedenen Organen, wie der Gastrulation, der Entwicklung des Innenohrs sowie auch der Krebsentwicklung in Verbindung gebracht (Wiese et al., 2018). Dieser Signalweg reguliert die Polarisation ganzer Gewebe (Humphries und Mlodzik, 2018). Zentraler Übertragungsfaktor dieses Signalpfads ist Dishevelled, ein zytosolisches Phosphoprotein (Abbildung 2, Seite 14). Es aktiviert nach einer Bindung an die Zellmembran über einen Frizzled-Rezeptor die zwei kleinen GTP-bindenden Proteine Rac1 und RhoA. Diese vermitteln dann die Entwicklungsvorgänge im Zytoskelett.

Der zweite nicht kanonische Signalweg, der Wnt/ Ca^{2+} -Signalweg, bewirkt unter Beteiligung des Proteins Dishevelled und G-bindender Proteine eine Freisetzung von Kalziumionen, welche die Proteinkinase C und Proteinkinase II (CamK II) sowie den *nuclear factor of activated T cells* NFAT aktivieren (Veeman et al., 2003, Abbildung 2, Seite 14). Über diesen Signalweg kann außerdem die Aktivierung von β -Catenin, dem zentralen Signalfaktor des kanonischen Signalwegs, gehemmt werden (Kohn und Moon, 2005).

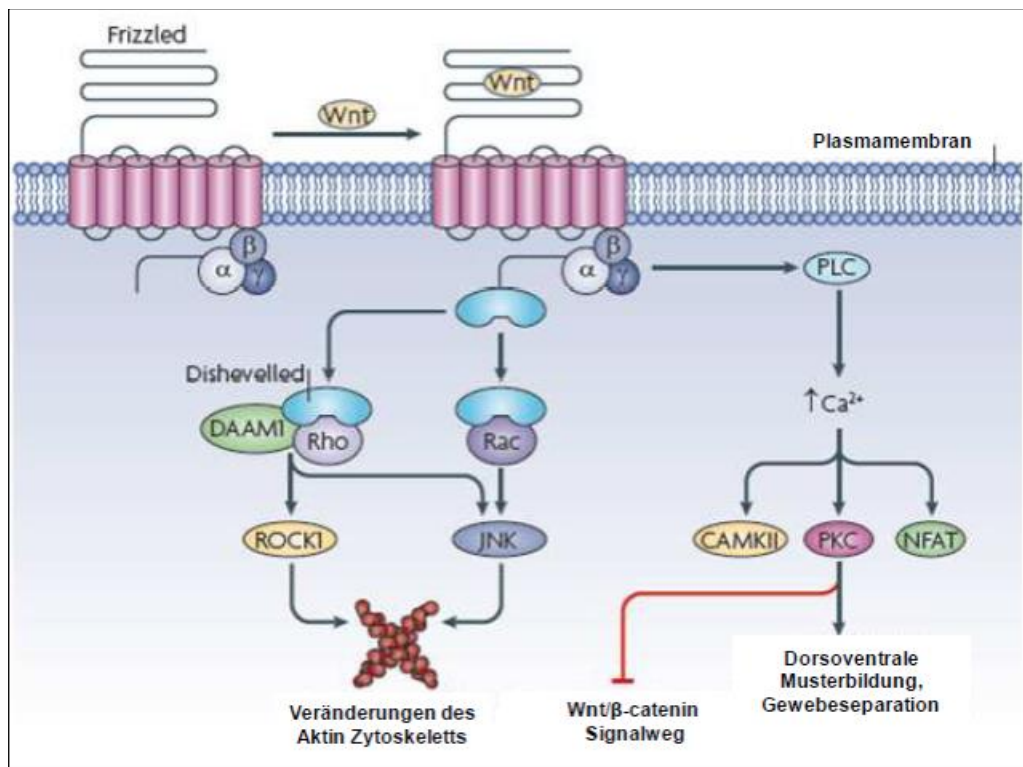


Abbildung 2: Die nicht kanonischen Wnt-Signalwege

JNK: JUN N-terminale Kinase; Rac, Rho: kleine G-Proteine; DAAM1: Dishevelled-assoziiertes Aktivator der Morphogenese 1; ROCK1: Rho-assoziierte Proteinkinase 1; α, β, γ: heterotrimere G-Proteine aus α-, β- und γ-Untereinheit; CAMKII: Ca²⁺/Calmodulin-abhängige Proteinkinase; PKC: Proteinkinase C; NFAT: nuklearer Faktor der aktivierten T Zellen; PLC: Phospholipase C. (Angers und Moon, 2009, verändert)

Der am häufigsten beschriebene Signalweg ist der sogenannte kanonische Wnt-Signalweg über die Frizzled-Rezeptoren zu β-Catenin (Abbildung 3, Seite 15). Ein Wnt-Ligand wird von der Oberfläche der Signalzelle abgestoßen. Dieser wird dann an der Zielzelle an einen Frizzled-Rezeptor (Fz) sowie an ein Co-Rezeptor-Protein, wie z. B. das *low-density lipoprotein receptor-related protein* LRP5 oder LRP6 (bei Drosophila: Arrow), gebunden, was zu einer Signalübertragung und einer Stabilisierung des β-Catenins führt.

Das β-Catenin ist beim kanonischen Übertragungsweg der zentrale Übertragungsfaktor. Über die Verbindung von Zytoskelett-assoziierten Proteinen wie Vinculin und Mikrofilamenten des Zytoskeletts vermittelt es die Zelladhäsion. Das β-Catenin interagiert zudem im Nucleus mit Übertragungsfaktoren wie dem *lymphoid enhancer-binding factor 1/T cell-specific transcription factor* (LEF1/TCF), um die Übertragung zu den Zielzellen anzustoßen. In manchen Fällen sind der Zelltyp oder multiple Zellen bis hin zu ganzen Geweben für die Art der Regulation der Wnt-Zielgene verantwortlich, in anderen Fällen trägt das Wnt-Signal zur Regulierung bei (Wiese et al., 2018).

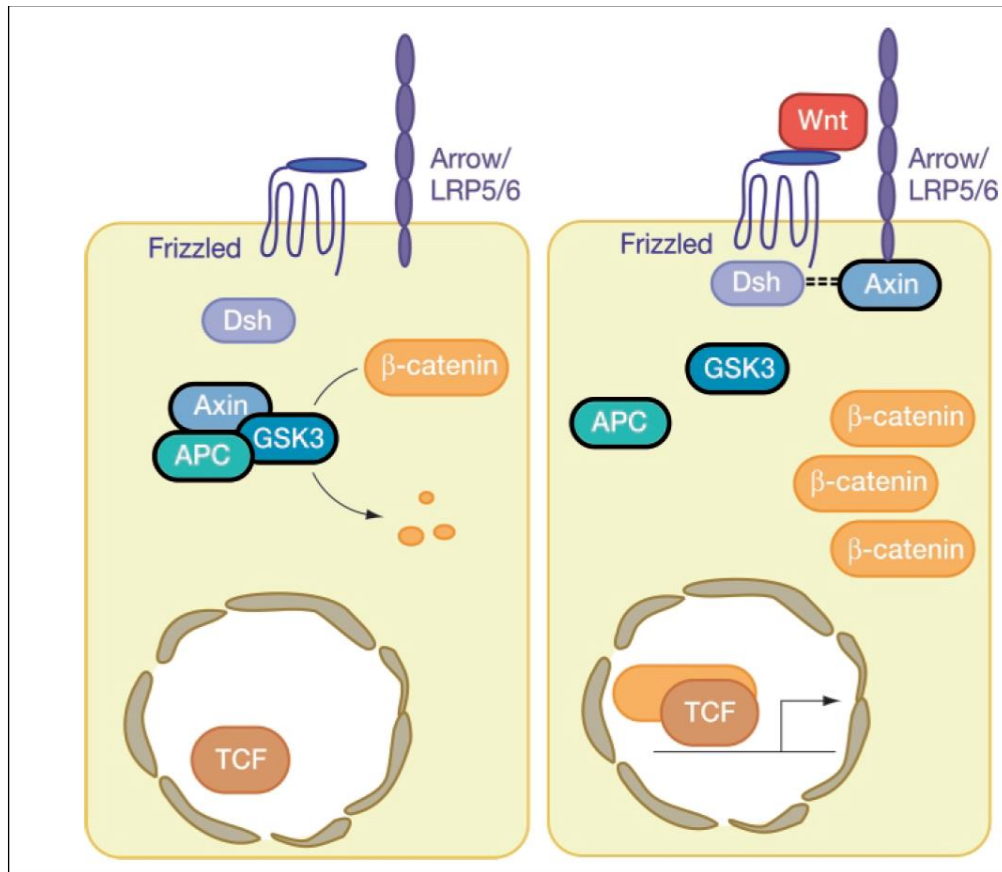


Abbildung 3: Die kanonische Wnt-Signalübertragung

TCF: T cell-specific transcription factor; APC: Adenomatous Polyposis Coli; GSK3: Glycogen Synthase Kinase-3 β ; Dsh: Dishevelled; LRP5/6: low-density lipoprotein receptor-related protein. (Logan und Nusse, 2004)

Die Zielgene der Wnt-Signaltransduktion können jeweils aktiviert oder gehemmt werden und sind in unterschiedlichen Organen bzw. Organismen zu finden. Auch bei neurodegenerativen Erkrankungen spielt dieser Signalweg eine Rolle (Libro et al., 2016). Im kanonischen Wnt-Signalweg sind weiterhin 14 Feedback-Kontrollschleifen eingefügt, die für die reibungslose Übertragung sorgen sollen. Das bedeutet, Wnt-Signale können selbst auch Komponenten des Wnt-Signalwegs aktivieren, wie zum Beispiel die Frizzled. Über die Aktivierung oder Inaktivierung bestimmter Zielgene sorgen die Wnts für die Regulation ihrer Signalwege. Inzwischen sind 135 Gene mit einer TCF-Bindungsstelle charakterisiert, die über Wnt reguliert werden können, weitere sind über das Expressions-Profilung gefunden worden (Nusse, 2018).

1.3.2 Dickkopf-Genfamilie

Die *DKK*-Gene sind eine relativ kleine Genfamilie, bestehend aus vier Genen (*DKK1-4*) sowie einem mit dem *DKK3* assoziierten Gen, *DKKL1* (*Dickkopf-like Protein 1, sloppy*). *DKK1*

wurde als erstes in seiner Funktion bei der embryonalen Hirnentwicklung als Wnt-Antagonist bei *Xenopus* (Krallenfrosch) entdeckt und später auch beim Menschen, anderen Wirbeltieren und Wirbellosen identifiziert; die *DKK*-Gene werden zu den evolutionär ältesten Genarten gezählt (Niehrs, 2006).

DKKs sind sekretierte Glycoproteine mit 255-350 Aminosäuren und einer geschätzten Masse zwischen 24 und 29 kDa für DKK1, 2 und 4 sowie 38 kDa für DKK3 (Niehrs, 2006). Die Einzigartigkeit der DKK-Genfamilie beruht auf den beiden Domänen mit ihrer charakteristischen Anordnung von Cysteinen (Abbildung 4). Die *DKK*-Gene sind beim Menschen wie folgt lokalisiert: *DKK1* auf 10q11, *DKK2* auf 4q25, *DKK3* auf 11p15.3 und *DKK4* auf 8p11. Laut Niehrs (2006) gehören demnach *DKK1*, 2 und 4 zur gleichen paralogen Chromosomengruppe 4/5/8/10. Auch bezogen auf die DNA-Sequenzen zeigen *DKK1*, 2 und 4 mehr Ähnlichkeiten untereinander, während *DKK3* Ähnlichkeiten zu *DKKL1* aufweist, das wiederum keinerlei Ähnlichkeit mit den anderen Genen zeigt (Hamzehzadeh et al., 2018)

Auch im Hinblick auf die Funktionalität sind Unterschiede zwischen den Proteinen DKK1, 2 und 4 einerseits und DKK3 andererseits festzustellen, die insbesondere die Regulation der Wnt-Signalwege betreffen. Guder und seine Mitarbeiter (2006) schließen auf eine Spaltung der *DKK*-Familie zu einem evolutionär frühen Zeitpunkt.

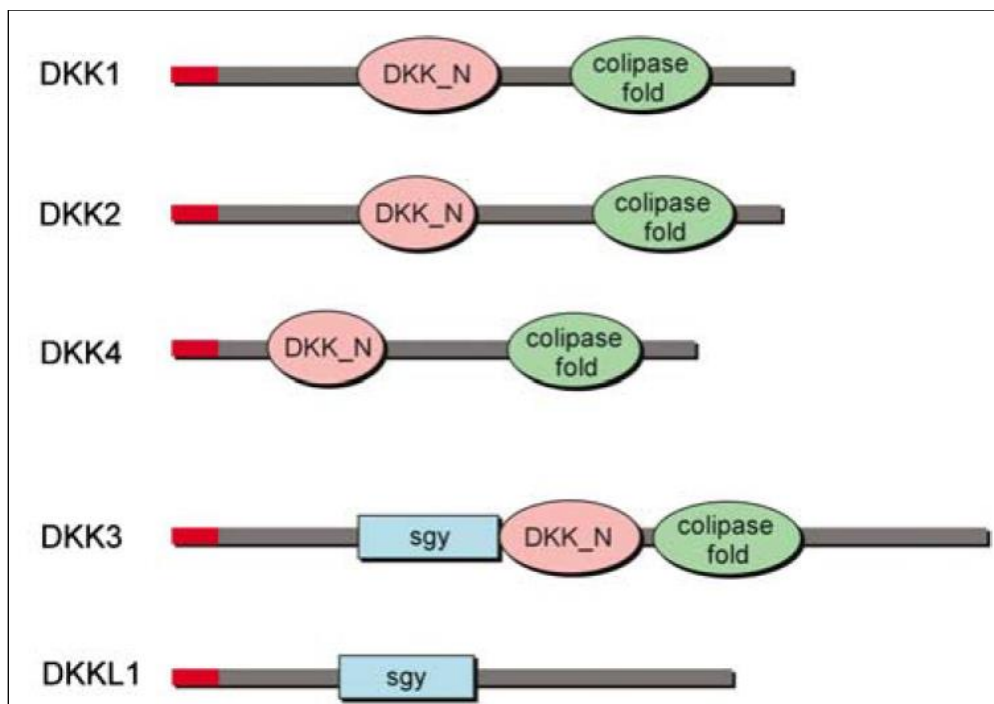


Abbildung 4: Die Anordnung der Proteindomänen bei den Genprodukten der DKK-Familie

DKK: Dickkopf; DKKL: Dickkopf-like; DKK_N: N-terminale cysteinreiche Domäne; sgy: sloppy. (Niehrs, 2006)

Die erste, N-terminale cysteinreiche Domäne, DKK_N (frühere Bezeichnung: Cys1), ist in dieser Form nur bei den DKK-Proteinen anzutreffen, während die zweite, C-Terminale cysteinreiche Domäne (früher Cys2) aus einem Muster von zehn Cysteinen besteht, die demjenigen von Colipasen entspricht (Niehrs, 2006). Alle DKK-Gene bei Wirbeltieren enthalten beide Domänen. Die sgy-Domäne (*sloggy*) findet sich nur bei DKK3 und DKKL1.

DKK1, 2 und 4 sind Antagonisten der Wnt-Signalwege, indem sie die Wnt-Co-Rezeptoren LRP5 und 6 hemmen (Shao et al., 2017). Neben der inhibitorischen Wirkung auf die kanonische Wnt-Signalkette führt DKK1 gleichzeitig zu einer Aktivierung der nicht kanonischen Wnt/JNK-Signalkette (Killick et al., 2014). Darüber hinaus ist insbesondere beim DKK2 auch eine aktivierende Wirkung auf die kanonischen Wnt-Signale bekannt.

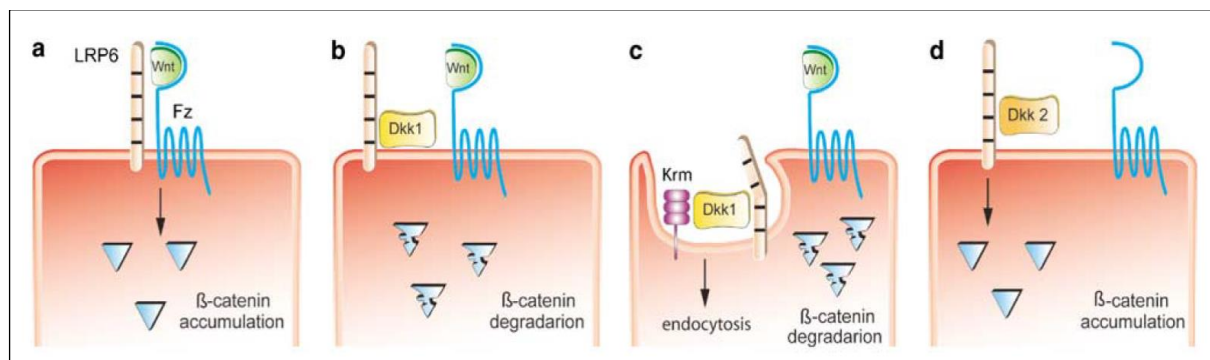


Abbildung 5: Modell der Interaktion der DKK-Gene 1 und 2 bei der Wnt/β-Catenin-Übertragung

a: Der Ligand Wnt bildet mit dem Frizzled-Rezeptor (Fz) und dem Co-Rezeptor LRP6 einen Dreifachkomplex, der zur Stabilisierung des Botenstoffs β-Catenin und damit zur Aktivierung des Signals führt. **b:** Die Bindung von DKK1 an LRP6 führt zur Störung der Signalübertragung durch die Verhinderung von Wnt-Bindungen an die Frizzled-Rezeptoren; **c:** Die Signalhemmung geschieht darüber hinaus auch durch Endozytose über die DKK1-Co-Rezeptoren Kremen (Krm); **d:** Unabhängig davon kann DKK2 die Bildung von LRP6 fördern, was zur Aktivierung des Signalweges beiträgt (Niehrs, 2006).

Die DKKs modulieren insbesondere den kanonischen Wnt-Signalweg (Abbildung 5). Der Ligand Wnt bildet mit dem Frizzled-Rezeptor und dem Co-Rezeptor LRP6 einen Dreifachkomplex, der zur Stabilisierung des Botenstoffs β-Catenin und damit zur Aktivierung des Signals führt (Abbildung 5a). Die Bindung von DKK1 an LRP6 führt zur Störung der Signalübertragung durch die Verhinderung von Wnt-Bindungen an die Frizzled-Rezeptoren (Abbildung 5b). Die Signalhemmung geschieht darüber hinaus auch durch Endozytose über die DKK1-Co-Rezeptoren *Kremen* (*Krm*, Abbildung 5c). Unabhängig davon kann DKK2 die Bildung von LRP6 fördern, was zur Aktivierung des Signalweges beiträgt (Abbildung 5d).

Da alle *DKK*-Gene in die Wnt-Signalwege eingebunden sind, haben sie eine grundlegende Bedeutung bei der embryonalen Entwicklung. Eine ausführliche Übersicht über die Beteiligung von DKK1 wurde zuletzt 2010 von der Arbeitsgruppe um Lieven (2010) veröffentlicht. DKK1 ist an der Ausbildung des Kopfes beteiligt, wie z. B. anhand von *Xenopus*-Embryonen belegt wurde. Es zeigte sich zudem der Einfluss von DKK1 auf die Gastrulation. Eine Überaktivierung von DKK1 führte zu Entwicklungsstörungen von Chorda, Großhirn und Augen bei Zebrafischen und Kopfwuchsstörungen bei Mäusen (Lieven et al., 2010).

Ebenso kommt DKK1 wahrscheinlich eine Rolle bei der Entwicklung myokardialer Gewebe und damit der Formung des Herzens zu (Dueñas et al., 2017). Darüber hinaus wird seine Rolle bei neurodegenerativen Erkrankungen diskutiert, insbesondere seine Beteiligung am degenerativen Prozess bei der Alzheimer-Demenz (Purro et al., 2014).

Der Einfluss der *DKK*-Gene beim Menschen ist insbesondere in Bezug auf Krebserkrankungen erforscht worden. Einen aktuellen Überblick über die Studienlage gibt die Arbeitsgruppe um Shao (2017). DKK1 kommt hochreguliert in Cholangiokarzinomen, Chondrosarkomen, Leberzellkarzinomen, Blasenkrebs, Brustkrebs, Bauchspeicheldrüsenkrebs, multiplen Myelomen, Prostatakarzinomen, Speiseröhrenkarzinomen und Kehlkopfkrebs vor; eine verminderte Expression wurde bei Schilddrüsenkrebs, Adenokarzinomen des Dickdarms, zervikalen Karzinomen und Lungenkrebs festgestellt. Da DKK2 nur im Zusammenspiel mit LRP6 in den Wnt/ β -Catenin-Signalweg eingreifen kann, ist ein Effekt einer Überexpression immer von einer ausreichenden LRP6-Konzentration abhängig. Dies konnte beim Prostatakarzinom, dem Ewing-Sarkom und bei Dickdarmkrebs gezeigt werden. Meist wird aber DKK2 über RNA-Interferenz oder epigenetische Mechanismen herunterreguliert. Dies konnte bei Zungenkarzinomen, Speiseröhrenadenokarzinomen, Eierstockkrebs, Nierenkrebs und Leberzellkarzinomen festgestellt werden (Shao et al., 2017). DKK4 hat im Wnt-Signalweg vermutlich eine ähnliche Rolle wie DKK1, allerdings kann es auch Liganden für andere Signalwege binden und fungiert somit als Baustein in mehreren Signalketten (Shao et al., 2017).

1.4 Dickkopf 3

DKK3 ist zwar ein Mitglied der Dickkopf-Familie, jedoch ist die Interaktion mit dem Wnt-Signalweg weiterhin unklar. Möglicherweise ist DKK3 nicht in den kanonischen, sondern in den Wnt/PCP-Signalweg involviert (Hamzehzadeh et al., 2018).

1.4.1 DKK3 und Krebs

Zu DKK3 liegen bisher nur wenige empirische Untersuchungen vor, der bisherige Forschungsstand ist daher überschaubar. Es sind noch nicht alle Funktionen geklärt, die DKK3 im Körper übernimmt (Inoue et al., 2017). DKK3 ist vor allem hinsichtlich seiner Wirkungen

auf Krebszellen untersucht worden. Es gibt eine Reihe von Hinweisen darauf, dass DKK3 einen inhibitorischen Effekt auf das Tumorstadium hat. Eine verminderte Expression von DKK3 konnte nachgewiesen werden in Melanomen, basalem Brustkrebs, Magenkrebs, Nierenzellenkrebs und Bauchspeicheldrüsenkrebs. Dagegen findet sich in Hepatoblastomen und Adenokarzinomen der Speiseröhre eine Überexpression (Shao et al., 2017).

Zenzmaier und seine Mitarbeiter (2008b) führten aus, dass die Downregulierung des DKK3 in Prostatakrebs-Epithelzellen allerdings mit einer verstärkten Expression in den Blutgefäßen einhergeht. Diese Regulation der Zellmorphogenese verläuft vermutlich nicht über den Wnt-Signalweg, sondern über eine *Transforming-growth-factor*- (TGF)- β -abhängige Reaktion. DKK3 inhibiert die Expression der Metalloproteasen 2 und 9 und hält damit die normale Zellorganisation aufrecht (Romero et al., 2016). Die Arbeitsgruppe um Li (2017b) konnte zeigen, dass die Überexpression von DKK3 die Zellproliferation inhibiert sowie die Apoptose und die Kollagensynthese über eine TGF-abhängige Signalkette aktiviert. Durch den engen Zusammenhang von DKK3-Expression und dem Outcome bei verschiedenen Tumoren, wie akuter lymphoblastischer Leukämie oder Leberkarzinomen, gilt DKK3 auch als einer der wenigen Biomarker für Krebs (Hamzehzadeh et al., 2018).

Einige der Studien im Bereich der Krebsforschung sind als Assoziationsstudien zu Polymorphismen des *DKK3* angelegt. Mithilfe dieses Studiendesigns wurde beispielsweise eine mögliche modifizierende Wirkung von *DKK3*-Polymorphismen auf das Wachstum von Nierentumorzellen festgestellt (Goggolidou, 2014). Weiterhin scheint der DKK3-SNP rs7396187 einen Schutzeffekt bei Lungenkrebspatienten zu besitzen (Bahl et al., 2017).

Bislang steht auch der SNP in Verdacht, in bestimmten Krebserkrankungen involviert zu sein. Zwar stellte sich heraus, dass keine Assoziation zum Magenkrebs besteht (Wu et al., 2016), allerdings zeigte sich, dass dieser SNP zusammen mit der Risikovariante in DKK2 rs419558 zu einer Verdopplung des Risikos einer Lungenkrebskrankung führt (Bahl et al., 2017). Weiterhin scheint rs3206824 einen Einfluss auf das Tumorgeschehen beim Nierenzellkarzinom zu haben (Hirata et al., 2009). Vermutlich beeinflusst dieser SNP die Bindung der microRNA-183, die DKK3 herunterreguliert und so als Onkogen fungiert (Zhang et al., 2018).

1.4.2 DKK3 und Kognition

Neben dem Schwerpunkt der tumorregulativen Wirkung wurde dem Thema des Einflusses auf neuronale Prozesse und der Kognition bei DKK3 in der Forschung nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Eine Duplikation der Genregion, in der auch DKK3 liegt, hat einen Einfluss auf den Intellekt des Betroffenen (Kaminsky et al., 2011).

Messungen des Expressionslevels erbrachten eine hohe Konzentration von DKK3 im Hirngewebe (Shao et al., 2017). Zudem werden sowohl die embryonale Hirnentwicklung als auch die synaptischen Funktionen und die Apoptose im Hirn durch DKK3 gesteuert (Krupnik et al., 1999). DKK3 scheint bei der Ausbildung und Differenzierung von callosalen Projektionsneuronen eine wichtige Rolle zu spielen (Molyneaux et al., 2009). Die Funktion des DKK3 bei der Entwicklung auch neokortikaler Hirnareale legt nahe, dass durch ihre Expression höhere kognitive Funktionen berührt werden.

Eine Studie erbrachte mittels *In-situ*-Hybridisierung bei älteren Schizophreniepatienten eine geringere DKK3-Expression im superioren lateralen Kortex und den pyramidalen Zellen des Hippocampus (Ftoun et al., 2005). Die DKK3-Expression im Plasma scheint zudem mit dem Alter anzusteigen (Zenzmaier et al., 2008a). Diese Studien wurden aber bisher nicht um Untersuchungen zum kognitiven Status der Versuchspersonen und mögliche Zusammenhänge mit dem DKK3-Level ergänzt.

Von Zenzmaier und seinen Mitarbeitern (2009) stammt die bisher einzige Studie, welche den Zusammenhang zwischen dem DKK3 und kognitiven Ausfällen näher erforscht. Hierbei ging es um die Frage nach der Möglichkeit, den DKK3 als diagnostischen Marker für die Alzheimer-Demenz zu nutzen. Auch hier wurden DKK3-Expressionen in den pyramidalen Neuronen insbesondere im *Plexus choroideus*, im frontalen Kortex und im Hippocampus gefunden. Alzheimer-Patienten besaßen im Vergleich zur nicht klinischen Kontrollgruppe und zur Gruppe von Patienten mit Depressionen und minimalen kognitiven Funktionsstörungen (*mild cognitive impairment*, MCI) signifikant erhöhte DKK3-Level sowohl im Plasma als auch im Liquor. Die Autoren schlussfolgern, dass DKK3 im *Plexus choroideus* produziert und über das Plasma transferiert wird, ebenso wie eine Produktion und Verbreitung von DKK3 über die kortikalen Pyramidalzellen möglich ist. Zenzmaier und seine Mitarbeiter wiesen nach, dass DKK3 als ein zusätzlicher diagnostischer Marker insbesondere bei der Differenzialdiagnose von Alzheimer und MCI eingesetzt werden könnte (Zenzmaier et al., 2009). Darüber hinaus zeigt es auch eine Co-Lokalisation mit den Amyloid- β -Plaques der Patienten (Bruggink et al., 2015).

Dieser Einfluss des DKK3 erfolgt möglicherweise über eine Interaktion mit TGF- β 1. TGF- β 1 gehört zu einer Gruppe von 40 strukturverwandten regulatorischen Proteinen. TGF- β 1 wird unter anderem eine neuroprotektive Funktion zugesprochen (Dhandapani und Branin, 2003; Qian et al., 2008). Bei Personen, die an Alzheimer erkrankt sind, konnten auch für TGF- β 1 erhöhte Mengen im Gehirn selbst und in den Gefäßen festgestellt werden (Haque und Nazir, 2016). Daraus kann geschlossen werden, dass eine Dysfunktion des TGF- β Signalweges ein kausaler Faktor bei der Entstehung der Alzheimer-Erkrankung ist (Zhang et al. 2016).

Neben der Funktion von DKK3 im Wnt-Signalweg sind weitere Funktionen des Proteins denkbar, die letztendlich die Leistung des Gehirns beeinflussen können. Es konnte nachgewiesen werden, dass durch das Fehlen des DKK3 die Regulation der Zellinteraktion gestört ist (Alfonso et al., 2014). Dies wurde *in vitro* an Ntera2-Zellen in Suspension nachgewiesen, die auf einen Retinolsäureimpuls hin zu Neuronen ausdifferenzieren.

1.5 Einfluss von SNPs auf Transkripton und Translation

Die Arbeitsgruppe um Sniekers (2017) konnte viele SNPs mit der Ausprägung der Intelligenz in Zusammenhang bringen. Dabei stellt sich die Frage, welcher Mechanismus einer derartigen Ausprägung zugrunde liegen könnte. Einerseits verändert eine Punktmutation im codierenden Bereich eines Gens möglicherweise die translatierte Aminosäuresequenz, was Konsequenzen für die Sekundär-, Tertiär- und sogar Quartärstruktur des Proteins haben kann. Die Mechanismen intronischer Varianten sind dagegen weniger leicht erklärbar. Nach einer möglichen Veränderung der Aminosäuresequenz kann eine Punktmutation zu einem veränderten Spleißverhalten der prä-mRNA führen. So kann damit durch eine Änderung der Bindungsstellen regulatorischer Proteine das Bindungsverhalten der Komponenten des Spleißosoms an der prä-mRNA verändert und so eine alternative Spleißstelle bevorzugt werden (z. B. Ahsan et al., 2017). Weiterhin können durch exonische oder intronische Polymorphismen Spleißenhancer oder -silencer verändert werden. Um diese aufspüren zu können, existieren bereits entsprechende webbasierte Programme (z. B. Cartegni et al., 2003; Smith et al., 2006).

Eine weitere Möglichkeit der Beeinflussung der Expression eines Gens über die Primärsequenz der RNA wäre eine veränderte Transkription über Proteine, die an die fertig prozessierte mRNA binden, aber zunächst eine Translation verhindern und damit ebenfalls die Proteinkonzentration modulieren können (Vaklavas et al., 2017). Eine weitere Regulationsstelle sind Transkriptionsfaktorbindungsstellen, Transkriptionenhancer oder -silencer die auch innerhalb des betroffenen Gens liegen können, das sie beeinflussen (Zhenilo et al., 2015). Eine weitere Ebene der Regulation ist die Methylierung der DNA (Li und Zhang, 2014). Es konnte gezeigt werden, dass dieser epigenetische Mechanismus eine wichtige Rolle in der altersabhängigen Neurodegeneration und bei kognitiven Defekten spielt (Xu, 2015).

2 Fragestellung

Die Intelligenz zählt zu den kognitiven Fähigkeiten des Menschen, die zu einem erheblichen Anteil genetisch bedingt sind. Dabei handelt es sich nicht um ein monogenetisches Merkmal, sondern um ein Merkmal, welches durch eine Vielzahl unterschiedlicher Gene und Genklassen zu jeweils einem kleinen Anteil beeinflusst wird.

Das DKK3-Gen gehört zur DKK-Genfamilie, welche über den Wnt-Signalweg auf eine Vielzahl von Zellentwicklungsprozessen Einfluss nimmt. Neben seiner suppressiven Wirkung auf Krebszellen wird auch eine Funktion des DKK3 bei der Hirnentwicklung angenommen. Es konnte bereits eine erhöhte DKK3-Expression sowohl im Plasma als auch im Liquor bei Alzheimer-Patienten im Vergleich zu Patienten mit leichten kognitiven Störungen gezeigt werden, was Auswirkungen auf die kognitiven Leistungen denkbar macht.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, das DKK3-Gen auf seinen Zusammenhang mit kognitiven Leistungen an einer nicht-klinischen, deutschen Stichprobe zu untersuchen.

Dazu wurde eine Untersuchung der genomischen DNA an 2452 gesunden Probanden mit Bestimmung der Allel- und Genotypenfrequenzen für die Polymorphismen rs3206824 und rs7480000 durchgeführt.

Zur Bestimmung des Intelligenzniveaus diente der Hamburg Wechsler Intelligenztest für Erwachsene in seiner revidierten Fassung von 1991 (HAWIE-R). Die Allel- und Genotypfrequenzen sollten jeweils zur Gesamtestleistung sowie zu den Ergebnissen der einzelnen Untertests in Beziehung gesetzt werden.

3 Material und Methodik

3.1 Vorbedingungen der Studiendurchführung

Die Rekrutierung der Probanden für die Studie erfolgte per Zufallsauswahl unter der Einwohnerschaft Münchens, die Adressen wurden vom Einwohnermeldeamt zur Verfügung gestellt. Die Rekrutierung folgte einem mehrstufigen Vorgehen, bei dem zunächst eine schriftliche Einladung und Informationen zur Studie verschickt wurden. Wurde von den Adressaten das Einverständnis zur Studienteilnahme gegeben, wurde ein Telefonscreening durchgeführt, bei dem die Ein- und Ausschlusskriterien zur Studie abgeklärt wurden. Kam der Proband aufgrund des Screenings für die Studie infrage, wurde er zu den weiteren Untersuchungen eingeladen.

Alle Studienteilnehmer wurden über die Zielsetzung der Studie sowie die Anonymisierung der gewonnenen Daten aufgeklärt. Die Teilnahme an der Untersuchung erfolgte freiwillig. Von jedem Probanden lag eine schriftliche Einverständniserklärung vor.

3.2 Studienteilnehmer

Zur Studie wurden weibliche und männliche Probanden im Alter zwischen 18 und 70 Jahren ausgewählt. Ein weiteres Einschlusskriterium war die deutsche Herkunft: Personen mit Migrationshintergrund (Eltern oder Großeltern ohne deutsche Staatsbürgerschaft) wurden nicht berücksichtigt. Als Ausschlusskriterium wurden eine eigene psychiatrische Erkrankung, Abhängigkeiten und Substanzabusus, psychiatrische Erkrankungen bei Verwandten sowie neurologische oder andere körperliche Erkrankungen mit potentiellen Auswirkungen auf psychische Prozesse festgelegt. Weiterhin wurden in der Studie nur nicht miteinander verwandte Personen einbezogen.

Insgesamt wurden 2452 Teilnehmer in die Studie eingeschlossen, davon 1122 männlich und 1330 weiblich.

3.3 Studiendesign

Das Studiendesign für die hier vorgelegte Studie ist in Abbildung 6 (Seite 24) dargestellt. Es soll dabei auf der einen Untersuchungsseite das Vorhandensein der verschiedenen Allele der DKK-Polymorphismen untersucht werden. Der zweite Untersuchungsstrang überprüft die Intelligenz der Studienteilnehmer mittels HAWIE. Ziel ist es, eine Assoziation zwischen der Allelausstattung und den Ergebnissen des Intelligenz-Tests herzustellen.

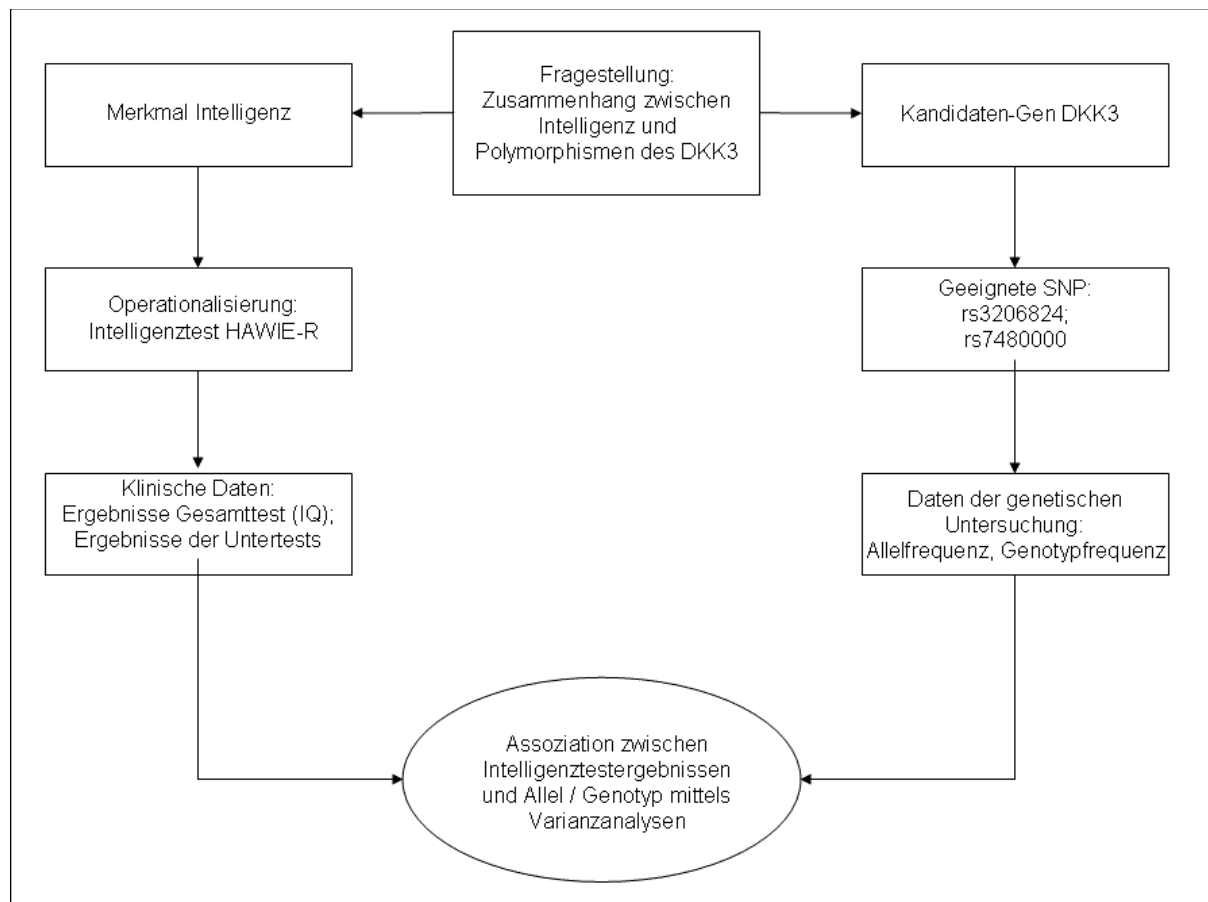


Abbildung 6: Studiendesign der empirischen Untersuchung

3.4 Datenerhebung

3.4.1 Erfassung des Intelligenzstatus: HAWIE-R

Die Intelligenz der Probanden wurde mittels des Hamburg-Wechsler-Intelligenztests für Erwachsene nach Wechsler (1964) in der revidierten Fassung (HAWIE-R; Tewes, 1994) erfasst. Die Durchführung erfolgte im Jahr 2009. Der HAWIE-R ermöglicht die Messung von Intelligenz nach dem Ansatz von Wechsler (1964), wonach die Ergebnisse von Intelligenztests auf einen Generalfaktor sowie auf jeweils spezifische Faktoren zurückgehen, die in verbal orientiert oder handlungsorientiert eingeteilt werden können. Entsprechend gliedert sich der Test in 11 Untertests auf, die unterschiedliche Leistungen abrufen und in sechs Verbaltests sowie fünf Handlungstests unterteilt sind. Dieses Verfahren eignet sich sowohl zur Einschätzung des allgemeinen Intelligenzstatus als auch zur Untersuchung von spezifischen Intelligenzleistungen.

Untertest Allgemeines Wissen

Dieser Untertest besteht aus insgesamt 24 Fragen aus unterschiedlichen Wissensgebieten mit ansteigendem Schwierigkeitsgrad. Es werden allgemeine Kenntnisse verlangt, die von einer Person mit durchschnittlichem Bildungsniveau im europäischen Kulturkreis erwartet werden. Hierbei wird eine allgemeine intellektuelle Leistungsfähigkeit bei stark kultureller Abhängigkeit erhoben (Tewes, 1994). Bei Nicht- oder Falschbeantwortung von fünf Fragen nacheinander wird der Untertest abgebrochen.

Untertest Zahlen Nachsprechen

Bei diesem Untertest sollen vom Probanden sieben Zahlenreihen mit jeweils ansteigender Ziffernzahl nachgesprochen werden. Die Zahlenreihen müssen im ersten Durchgang in gleicher Reihenfolge, im zweiten Durchgang in umgekehrter Reihenfolge dargeboten werden. Der Test wird abgebrochen, wenn der Proband zweimal nacheinander erfolglos bleibt (Tewes, 1994).

Mit diesem Untertest werden die akustische Merkfähigkeit sowie die Aufmerksamkeitsleistung erfasst. Ausfälle können evtl. Hinweise auf hirnorganische Veränderungen liefern; auch bei psychiatrischen Erkrankungen oder hoher Testangst kann die Leistung der Probanden herabgesetzt sein.

Untertest Wortschatz

Bei diesem Untertest sind die Probanden angehalten, 32 Wörter von ansteigendem Schwierigkeitsgrad mit eigenen Worten zu erklären. Das Handbuch enthält Vorgaben über die Bewertung der von den Probanden abgegebenen Antworten (Tewes, 1994). Bei fünf falsch oder nicht beantworteten Fragen wird der Untertest abgebrochen. Der Wortschatztest gilt als ein sehr gutes Maß für die allgemeine Intelligenz sowie die verbale Begriffsbildung und sprachliches Ausdrucksvermögen unter der Voraussetzung der Muttersprache.

Untertest Rechnerisches Denken

Es werden 14 Rechenaufgaben mit anwachsendem Schwierigkeitsgrad dargeboten, die von den Probanden unter Zeitbegrenzung im Kopf gelöst werden sollen. Bei den Rechenaufgaben werden einfache numerische Operationen der vier Grundrechenarten abgeprüft. Beim Überschreiten der Zeitgrenze von 120 Sekunden gilt die Aufgabe als nicht gelöst. Wenn drei Aufgaben nacheinander nicht gelöst werden, wird der Untertest abgebrochen (Tewes, 1994).

Der Untertest Rechnerisches Denken gilt als ein gutes Maß der allgemeinen Intelligenz sowie der geistigen Beweglichkeit, allerdings sind die Ergebnisse von der schulischen Leistung

bzw. schulischen und beruflichen Erfahrungen abhängig. Eine geringe Konzentrationsfähigkeit kann ebenfalls zu niedrigeren Testergebnissen führen.

Untertest Allgemeines Verständnis

Bei diesem Untertest sollen die Probanden 13 Fragen des Alltags bei ansteigender Schwierigkeit beantworten. Die vom Testautor als richtig definierten Antwortmöglichkeiten werden für den Testleiter im Anhang des Handbuches erläutert. Nach vier nicht oder falsch beantworteten Fragen in Folge wird der Test abgebrochen (Tewes, 1994). Dieser Untertest erfasst das logische Denken (Denken in Ursache-Folge-Zusammenhängen) sowie die Fähigkeit, Alltagserfahrungen zu verwerten und zu beurteilen. Auch dieser Untertest ist von den kulturellen Vorerfahrungen einer Person abhängig.

Untertest Gemeinsamkeiten Finden (GF)

Bei diesem Test wird der Proband gebeten, zu zwei vorgegebenen Begriffen einen Oberbegriff zu bilden. Der Untertest besteht aus 16 Wortpaaren mit ansteigender Schwierigkeit. Die als richtig zu wertenden Antwortmöglichkeiten sind im Handbuch zu finden. Nach vier falsch oder nicht beantworteten Begriffen in Folge wird der Untertest abgebrochen (Tewes, 1994). Der Test Gemeinsamkeiten Finden gilt als ein ausgezeichnetes Maß für verbales Abstraktionsvermögen und logisches Denken und ist damit ein guter Indikator für die allgemeine Intelligenz bei geringerer kultureller Abhängigkeit.

Untertest Bilder Ergänzen

Es werden 17 Bildvorlagen dargeboten, auf den dargestellten Bildern fehlt jeweils ein bedeutsames Teil. Der Proband wird gebeten, dieses Teil zu benennen. Wenn drei aufeinanderfolgende Aufgaben nicht oder falsch gelöst wurden, wird der Untertest abgebrochen (Tewes, 1994). Dieser Untertest erfasst die Fähigkeit zur visuellen Identifikation sowie zur Unterscheidung von wichtigen und unwichtigen Details. Bilder Ergänzen differenziert daher vor allem im unteren Intelligenzbereich, darüber hinaus ist er stark durch kulturelle Erfahrungen geprägt und muss daher in regelmäßigen Abständen auf zeitgemäße Bildvorgaben überprüft werden.

Untertest Bilder Ordnen

In diesem Untertest werden dem Probanden 10 Bilderserien von jeweils drei, fünf oder sechs Bildern dargeboten, die der Proband nach dem Handlungsablauf auf den Bildern in eine logische Reihenfolge bringen soll. Wenn vier Aufgaben in Folge nicht gelöst werden konnten, wird der Test abgebrochen (Tewes, 1994). Bilder Ordnen erfasst die Fähigkeit des Proban-

den, komplexe soziale Situationen wahrzunehmen und zu verstehen. Damit misst dieser Test in hohem Maße die soziale Intelligenz.

Mosaiktest

Beim Mosaiktest werden 9 Würfel, deren Seiten aus einer oder zwei farbigen Flächen bestehen, dargeboten. Der Proband erhält daneben neun Kärtchen mit geometrischen, farbigen Mustern mit aufsteigendem Schwierigkeitsgrad, die mithilfe der Würfel nachgebaut werden sollen. Für diese Aufgabe sind bestimmte Zeitgrenzen festgelegt worden. Der Test wird abgebrochen, wenn drei Aufgaben nacheinander falsch oder nicht gelöst wurden (Tewes, 1994). Durch den Mosaiktest werden neben der allgemeinen Intelligenz vor allem das räumliche Vorstellungsvermögen, Abstraktionsvermögen und deduktives Denken erfasst. Daneben ist der Test in der klinischen Diagnostik bedeutsam, da er Hinweise auf Hirnleistungsstörungen erbringen kann.

Untertest Figurenlegen

Bei diesem Test werden dem Probanden jeweils vier asymmetrische, aus nur wenigen Teilen bestehende Puzzles dargeboten, die dieser möglichst rasch zur richtigen Figur zusammensetzen soll. Hierbei wird die dazu benötigte Zeit abgenommen (Tewes, 1994). Dieser Test soll die Fähigkeit zur Herstellung von Beziehungen zwischen dem Ganzen und seinen Teilen erfassen; er differenziert allerdings vor allem im unteren Intelligenzbereich und bietet Hinweise auf den Problemlösestil und die Handlungsschnelligkeit einer Person.

Zahlen-Symbol-Test

Beim Zahlen-Symbol-Test wurden die einstelligen Zahlen 1-9 jeweils einem abstrakten Symbol zugeordnet. Der Proband erhält den Zuordnungsschlüssel und die Aufgabe, eine Tabelle von 100 Zahlenfeldern so schnell wie möglich durch das dazugehörige Symbol zu ergänzen. Es handelt sich um einen reinen Schnelligkeitstest (Speedtest), d.h. unabhängig von der Aufgabenbearbeitung wird der Test nach 90 Sekunden abgebrochen. Die Auswertung erfolgt mithilfe einer Schablone (Tewes, 1994). Der Zahlen-Symbol-Test soll die Informationsverarbeitungsgeschwindigkeit sowie das visuelle Kurzzeitgedächtnis erfassen. Daneben ist er ein gutes Maß für die Konzentrationsfähigkeit. Die Ergebnisse sind in hohem Maße altersabhängig.

3.4.2 Durchführung, Auswertung und Interpretation des HAWIE-R

Die Durchführung des HAWIE-R verlangt vom Testleiter ein hohes Maß an Koordinationsfähigkeit und Einfühlungsvermögen. Da der HAWIE-R vorrangig zur Untersuchung von Leistungsausfällen und Leistungsstörungen, z.B. in der klinischen Diagnostik bei psychiatrischen

oder neurologischen Krankheitsbildern, speziell bei der Diagnostik von Hirnleistungsstörungen oder zur Abbildung von Alterungsprozessen eingesetzt wird, ist der Testleiter angehalten, eine konstruktive und ermutigende Atmosphäre zur Leistungstestung herzustellen (Tewes, 1994). Muss ein Test aufgrund mehrerer falsch oder nicht gelöster Aufgaben abgebrochen werden, sollten die Probanden nicht das Gefühl des Versagens erhalten. Der Testleiter sollte mit dem Material vertraut sein, um gleichzeitig die unterschiedlichen Anweisungen umzusetzen, die Zeitnahme durchzuführen und die Ergebnisse zu dokumentieren. Die Anleitungen nebst den möglichst wörtlich wiederzugebenden Testanweisungen sind ausführlich im Handbuch erläutert (Tewes, 1994). Die Testdauer beträgt 60-90 Minuten.

Gleichfalls ist auch die Auswertung des Tests standardisiert, die Auswertungsmodi sind im Handbuch ausführlich erläutert. Je Untertest werden die Rohpunktwerte zusammengefasst und in Standardwerte ("Wertpunkte A und B") umgewandelt. Der Mittelwert der Wertpunkte beträgt 10, die Standardabweichung 3 Punkte. Die Wertpunkte A sind als Abweichungswerte von den Erwartungswerten der Altersgruppe 20-34 Jahre definiert, sie dienen auch der IQ-Bestimmung. Die Wertpunkte B erlauben eine altersgruppen- und leistungsgruppenorientierte Bestimmung des Leistungsstandes des Probanden. Die Wertpunkte der verbal orientierten sowie der handlungsorientierten Untertests werden jeweils zusammengeführt und können daraufhin in den Intelligenzstandardwert des IQ (Mittelwert: 100 Punkte, Standardabweichung: 15 Punkte) umgewandelt werden. Daraus ergibt sich auch die Bestimmung des Gesamt-IQ des Tests (Tewes, 1994).

Aus dieser Auswertung ergibt sich ein bestimmtes Leistungsprofil, das im Testbogen eingetragen wird und Aussagen über das generelle intellektuelle Leistungsniveau sowie bestimmte Leistungsspitzen und Leistungsabfälle erlaubt. Beispielsweise können die Unterschiede zwischen Verbal- und Handlungsteil oder zwischen zeitgebundenen und nicht-zeitgebundenen Tests interpretiert werden (Tewes, 1994). Da einige Untertests stark von bestimmten Kulturleistungen oder Kulturerfahrungen abhängig sind, sollten die Ergebnisse entsprechend auch kultur- und milieuspezifisch ausgewertet und interpretiert werden (Tewes, 1994). Es liegen gesicherte Normwerte für den Jugend- und Erwachsenenbereich im Alter zwischen 16 und 74 Jahren vor.

3.4.3 Testgüte und Bewertung des HAWIE-R

Der HAWIE-R war zum Zeitpunkt der Datenerhebung einer der meistverwendeten Leistungstests in Deutschland (Roth und Herzberg, 2008). Dieser Test wird regelmäßig weiterentwickelt, die aktuelle Version ist WAIS-IV (Petermann, 2012). Er differenziert gut bis zu 2 Standardabweichungen vom Mittelwert. Allerdings ist die Differenzierungsfähigkeit im oberen Intelligenzbereich eingeschränkt, es kommt zu "Deckeneffekten", da die Aufgabenstellungen

für diese Personengruppe vielfach zu leicht sind (Tewes, 1994). Die Stärken des HAWIE liegen in der Ermittlung eines ganzheitlichen Leistungsprofils im unteren Intelligenzbereich sowie zur Diagnostik spezifischer Leistungsausfälle.

Der HAWIE-R liegt eine Reihe von Untersuchungen zur Testgüte vor (Tewes, 1994). Die Durchführungsobjektivität des Tests ist aufgrund seines Charakters als Individualtests häufig eingeschränkt, in Abhängigkeit von der Erfahrung des Testleiters mit diesem Test. Hier gilt es, einen Mittelweg zwischen der möglichst standardisierten Testvorgabe und einem individuellen Eingehen auf möglicherweise durch Alter oder Krankheit beschränkte Testpersonen zu finden. Auch die Auswertungsobjektivität ist bei einzelnen Untertests trotz Handbuch eingeschränkt, da viel Erfahrung bei der Punktvergabe und der Bewertung der Antworten vorhanden sein muss. Die Reliabilität des HAWIE-R wurde mehrfach geprüft. Die internen Konsistenzen des HAWIE-R liegen im zufriedenstellenden Bereich. Zur Validität des Tests liegen Faktoranalysen vor, die eine Zweifaktoren-Struktur des Tests nahelegen. Die Trennung von Verbal- und Handlungstests im HAWIE-R konnte demnach bestätigt werden. Weiterhin wurden Vergleichsuntersuchungen von Absolventen unterschiedlicher Schulformen durchgeführt (Haupt, 2008).

3.5 Molekulargenetische Analysen

3.5.1 DNA-Extraktion

Zunächst wurde von allen Studienteilnehmern etwa 7-10 ml venöses Blut abgenommen. Es wurden EDTA-Monovetten (Sarsted, Nümbrecht) verwendet, um die Gerinnung des Blutes zu verhindern. Die Anonymisierung der Proben erfolgte durch die Verwendung von Codes für die Proben, die den identischen Codes der jeweiligen Intelligenztests zugeordnet werden konnten. Die genomische DNA wurde aus jeweils 5-10 ml Blut mithilfe des *QIAamp DNA Blood Maxi Kit* extrahiert. Tabelle 1 (Seite 30) enthält eine Auflistung der für die folgenden Arbeitsschritte verwendeten Materialien.

Die Schritte zur DNA-Extraktion folgten den Anweisungen der Qiagen GmbH (Hildesheim) für den *QIAamp DNA Blood Maxi Kit* (Qiagen, 2005). Diese folgt dem Prinzip, die DNA an eine Silikagelmembran zu binden, wobei chaotrope Salze zur Entfernung und Denaturierung der Proteine sowie Ethanol zur Entfernung der Hydrathüllen der Nukleinsäuren zugegeben werden. Darauf folgen Waschschrte, die zur Reinigung der gebundenen DNA führen. Durch Zugabe eines basischen Puffers wurde die DNA von der Säule eluiert. Mit dieser Methode können aus 10 ml Blut bis zu 200 µg gnomische DNA isoliert werden.

Tabelle 1: Liste der verwendeten Materialien und Reagenzien

Material / Reagenz / Gerät	Volumen	Hersteller
QIAamp DNA Blood Maxi Kit		Qiagen, Hilden
Qiagen Protease	500 µl	
AL Puffer	12 ml	
Puffer AW1 (Guadinin-HCl-haltig)	5 ml	
Puffer AW2 (ethanolhaltig)	5 ml	
AE Puffer	1 ml	
QIAamp Maxi Spin Säulen	50 ml	
1 x PBS-Puffer 8 g NaCl 0,2 g KCl 1,44 g Na ₂ HPO ₄ 0,24 g KH ₂ PO ₄ ad 1 l mit Aqua dest. Mit NaOH auf pH 7 Einstellen		eigene Herstellung, Chemikalien von Carl Roth, Karlsruhe
Ethanol (Rotipuran (>98 % p.A.))	10 ml	Carl Roth, Karlsruhe
Micro Schraubröhre	2.0 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Pippettenspitzen	diverse Größen	Eppendorf, Hamburg
Reaktionsgefäße mit Deckel	2 ml	Eppendorf, Hamburg
Reaktionsröhrchen	15 ml, 50 ml	Sarstedt, Nümbrecht
Vortex Genie		Scientific Industries, New York, USA
Wasserbad WNB 22		Memmert, Schwabhausen
Kühlzentrifuge CF108-GR		VWR Life Science Competence Center, Erlangen

Vorbereitung der Proben und Zelllyse

Zunächst wurde das EDTA-Blutvolumen mit 1x PBS in 50 ml Zentrifugenröhrchen auf 10 ml adjustiert. 500 µl der QIAgen Protease wurden dazugegeben. Die Zugabe der Protease bewirkte eine Lyse der Leukozyten und eine Fragmentarisierung der vorhandenen Proteine, was eine spätere Trennung der Nukleinsäuren von den anderen Bestandteilen erleichtern sollte.

Daraufhin wurde 12 ml des Guanidin-HCl-haltigen AL-Puffers zugefügt und dieser Ansatz ca. 60 s lang auf einem Vortex gemischt. Der Puffer sollte optimale Reaktionsbedingungen für die QIAgen Protease schaffen, was eine Voraussetzung zur Fällung der DNA und zur Adsorption an die Silika-Membran im nächsten Schritt darstellt. Zum Erhalt eines möglichst hohen Ertrags an DNA wurde die Lösung nach dem Mischen für 30 Minuten im Wasserbad bei 70°C inkubiert.

Adsorption der DNA an die Silika-Membran

Nach der Inkubation wurden der Lösung 10 ml Ethanol zugefügt und diese mittels Vortex etwa zwei Minuten lang gemischt. Dieses Gemisch wurde auf die Silikagel-Säule appliziert. Zur Bindung der DNA an die Matrix erfolgte eine Zentrifugation 3 min lang bei 3.000 rpm bei Raumtemperatur. Die vorherrschenden Salz- und pH-Bedingungen bewirkten, dass sich lediglich DNA an die Silika-Membran band, während RNA und nukleinsäurebindende Proteine ungebunden im Zentrifugat verblieben, welches verworfen wurde.

Reinigung der DNA

Die gebundene DNA wurde in einem in zwei Schritten erfolgenden Waschprozess gereinigt. Zuerst wurden RNA- und Proteinreste mithilfe von 5 ml Guanidin-HCl-haltigem Puffer AW1 mittels Zentrifugation (4.000 rpm, 2 min lang) entfernt. Anschließend wurden die verbliebenen Guanidiums Salzen des Puffers AW1 durch die Zugabe von 5 ml des ethanolhaltigen, salzarmen Puffers AW2 entfernt, wobei eine erneute Zentrifugation erfolgte (4.000 rpm; Dauer: 15 Minuten).

Elution der DNA von der Silika-Membran

Die Säule mit der gereinigten DNA wurde in ein neues Zentrifugationsröhrchen überführt, 0,6 ml AE-Puffer (Tris-Puffer, pH > 9,0) aufpipettiert und für fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Elution erfolgte durch eine anschließende Zentrifugation (5.000 rpm; 2 min). Das Eluat wurde in einem frischen Reaktionsgefäß aufgefangen. Dieser Schritt wurde wiederholt. Das Eluat wurde anschließend aliquotiert und bei -80°C in 2 Mikroschraubröhrchen gelagert.

3.5.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Für die Hochdurchsatzgenotypisierung müssen alle DNA-Proben die gleiche Konzentration aufweisen. Daher wurde die DNA-Konzentration für die weitere Untersuchung auf 50 ng/µl eingestellt. Die DNA-Konzentration wurde mithilfe der PicoGreen-Methode gemessen. PicoGreen ist ein Fluorophor, das selektiv an doppelsträngige DNA bindet (Rengarajan et al., 2002). Der entstehende Komplex kann zur Emission von Lichtquanten angeregt werden, die

direkt proportional zur vorhandenen doppelsträngigen DNA sind. Die benötigten Materialien sind in Tabelle 2 (Seite 32) zusammengefasst. Die Quantifizierung der extrahierten DNA-Lösungen erfolgt mittels einer Standardkurve bekannter DNA-Konzentrationen. Diese Standardkurve wurde durch eine 1:2-Verdünnungsreihe eines 100 ng/µl DNA-Standards bestehend aus 8 Punkten mit 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625 und 0 ng/µl hergestellt. Die Konzentrationsmessung wurde halbautomatisch mit einem Roboter (Janus Automated Workstation) durchgeführt

Tabelle 2: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die Konzentrationseinstellung

Material / Reagenz / Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
Human genomic DNA 100 ng/µl	Standardverdünnungsreihe	Clontech, Mountain View, USA
Quant iT PicoGreen dsDNA	Fluoreszenzmessung der DNA	Invitrogen GmbH Karlsruhe
96 well Flat Bottom Plate, schwarz	Vorlagenplatte für Standard und Proben-DNA	Greiner Bio-One, Frickenhausen
Thermo Fast 96 Well Plate	Vorverdünnung der Proben-DNA; Standardverdünnungsreihe	ABgene, Hamburg
Janus Automated Workstation	Durchführung aller Pipettierschritte	Perkin Elmer Inc. Massachusetts, USA
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Fluoreszenzmessung der DNA	Perkin Elmer Inc. Massachusetts, USA

Die zu messenden DNA-Lösungen wurden in einer 96 well Platte mit Wasser im Verhältnis 1:10 vorverdünnt. Die DNA-Proben der Standardkurve wurden nicht weiter verdünnt. Dann wurden in eine schwarze 96 well Platte mit flachem Boden je 50 µl steriles destilliertes Wasser vorgelegt und anschließend mit je 5 µl der Standardverdünnungsreihe bzw. der vorverdünnten Proben vermischt.

Zur Vorbereitung der Messung wurde das PicoGreen unter möglichst geringem Lichteinfall mit sterilem bidestilliertem Wasser (A. bidest.) in einem Verhältnis von 1:156 verdünnt. Daraufhin wurden daraus jeweils 145 µl zu den vorverdünnten Proben- bzw. der Standard-DNA gegeben. Damit ergab sich für das PicoGreen eine Endverdünnung von 1:200.

Die Platte wurde dann durch den Greifarm der Janus Workstation automatisch in den Victor 3 Multilabel Counter 1420 eingesetzt. Für eine homogene Durchmischung der Lösungen wurde die Probenplatte im Messgerät 30 s lang zunächst horizontal geschüttelt. Nach der

Anregung des photosensiblen PicoGreens bei 485 nm erfolgte die Emissionsmessung bei 520 nm, die Fluoreszenzwerte wurden an einen Rechner übermittelt. Sowohl für Standard- als auch Proben-DNA wurden Wiederholungsmessungen durchgeführt, um Messfehler zu minimieren. Die Konzentrationen der DNA-Proben wurden anhand der Fluoreszenzwerte der Standardkurve berechnet. Die letztliche Einstellung der DNA-Konzentration auf 50 ng/µl wurde vollautomatisch durch den Pipettierroboter durchgeführt, das Endvolumen der Lösungen lag bei 500 µl.

3.6 Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY

Die Genotypisierung der Probanden-DNA erfolgte mit dem sogenannten *increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY* (iPLEX)- Verfahren in drei Schritten. Zunächst erfolgt eine klassische Multiplex-Polymerasekettenreaktion (PCR) zur Amplifizierung der Ziel-DNA. Im nächsten Schritt wird eine Primer-Extension Reaktion durchgeführt. Dazu werden Primer eingesetzt, die unmittelbar neben dem SNP liegen. Diese werden in der iPLEX-Reaktion allelspezifisch um eine Base verlängert (Primerextension). Dies führt zu unterschiedlich schweren Produkten, die im Anschluss in einem *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation / Time of Flight* (MALDI-TOF) Massenspektrometer quantifiziert werden können.

3.6.1 Primerdesign

Die SNPs, die in die Genotypisierung eingeschlossen werden sollten, wurden mit Hilfe der Software AssayDesign 3.1 (Sequenom, San Diego, USA) zu Multiplexen zusammengestellt. Es wird dabei für jeden SNP ein Primerset aus zwei PCR Primern für die Multiplex PCR und einen Primer für die Primerextension zusammengestellt und die geeignete Plexzusammensetzung ermittelt. Die für die beiden SNPs rs3206824 und rs7480000 verwendeten PCR-Primer sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Verwendete Primerpaare für den jeweiligen SNP

SNP	Primer		Länge des PCR-Produkts [bp]
rs3206824	PCR	ACGTTGGATGTAAATCTCTTCCCCTCCCAG ACGTTGGATGAGAGGAGCCTGACTGAAGAG	99
	Extension:	tGCGGCAGCCGCAGGCTCCC	
rs7480000	PCR	ACGTTGGATGGTGGGAAGACCACCTCTTTT ACGTTGGATGCATTCCAGACTGGGCTTTTG	104
	Extension:	cAGACCACCTCTTTTTTTTCCC	

3.6.2 Multiplex-PCR zur Amplifizierung der SNPs und umgebenden Sequenzen

Die Polymerase-Kettenreaktion (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) ist ein in den 80er Jahren des vorigen Jahrhunderts entwickeltes Verfahren zur exponentiellen Vervielfältigung definierter DNA-Sequenzen *in vitro* (Mullis, 1990; Saiki et al., 1985). Jede Reaktion besteht aus den drei Phasen *Denaturierung*, *Annealing* und *Elongation*. In der *Denaturierungsphase* wird die doppelsträngige DNA auf 94-96°C erhitzt, um die Wasserstoffbrücken zwischen den Strängen zu lösen und die beiden Stränge zu trennen. Der Erhitzungsphase folgt eine schnelle Abkühlung und das *Annealing* der Primer. In der *Elongations- oder Amplifikationsphase* werden die fehlenden Gegenstränge mit freien Nukleotiden aufgefüllt.

Der Primer bildet den Anfang eines neuen Einzelstrangs, an 3'-OH der Primer beginnt dann die Anknüpfung einer komplementären Desoxynukleotidtriphosphat- (dNTP-) Kette. Auch hierbei muss eine optimale Temperatur gewählt werden, die von der verwendeten DNA-Polymerase abhängig ist; sie beträgt im Allgemeinen 68-72°C. Die Strangsynthese wird beim folgenden Denaturierungsschritt unterbrochen, so dass dann bereits Stränge in der gewünschten Länge vorliegen, die sich in den folgenden Zyklen exponentiell vermehren können.

Tabelle 4: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die Multiplex-PCR

Material / Reagenz / Gerät	Hersteller
dNTP Set, 100 mM	ABgene, Hamburg
MgCl ₂ , 25 mM	Qiagen, Hilden
PCR-Puffer 10x	Qiagen, Hilden
HotStar Taq DNA Polymerase (5U/μl)	Qiagen, Hilden
Primer	Metabion, Martinsried
Thermo Fast 96 well Plate	ABgene, Hamburg
Thermo Fast 384 well Plate	ABgene, Hamburg
GeneAmp PCR System 9700	Applied Biosystems, Foster City, USA

Mit Hilfe der Multiplex-PCR wurden zunächst die flankierenden Sequenzen des jeweiligen SNP amplifiziert. Die für die Multiplex-PCR verwendeten Reagenzien sind in Tabelle 4 zusammengefasst, die eingesetzten Volumina am Beispiel eines 10x-Plexes in Tabelle 5 (Seite 35) und das Temperaturprogramm in Tabelle 6 (Seite 35). Im Anschluss an die PCR wurden die Amplifikationsprodukte mit Hilfe der Alkalischen Phosphatase aus Shrimp dephosphoryliert (SAP, Sequenom).

Tabelle 5: Eingesetzte Volumina und Konzentrationen der einzelnen Reagenzien in der Multiplex-PCR am Beispiel eines 10x-Plexes

Reagenz	Konzentration in einer 5 µl Reaktion	Volumen pro 5 µl Einzelreaktion (incl. 25 % Überhang)	Volumen für 384 Reaktionen (incl. 25 % Überhang)
H ₂ O		1,850 µl	1386 µl
10x PCR-Puffer	1,25 x	0,625 µl	300 µl
MgCl ₂ (25 mM)	1,625 mM	0,325 µl	156 µl
dNTP Mix (25 mM)	500 µM	0,100 µl	48 µl
Primer Mix (jeweils 500 nM)	100 nM	1,000 µl	480 µl
Hotstar Taq (5 U/µl)	0,5 U/Reaktion	0,100 µl	48 µl
Total		4,000 µl	2400 µl

Tabelle 6: PCR-Temperaturprogramm

Temperatur	Dauer	Wiederholungen
95°C	5 min	
95°C	20 s	}45
56°C	30 s	
72°C	1 min	
72°C	3 min	
4°C	unbegrenzt	

Mithilfe eines Pipettierroboters wurden jeweils 4 µl Mastermix in die Vertiefungen einer 384 well Platte vorgelegt und 12,5 ng DNA zugegeben. Die Reaktionsplatten wurden dann abzentrifugiert, verschlossen und in Thermocyclern weiter prozessiert.

3.6.3 Dephosphorylierung der PCR-Produkte

Für die Primerextensions-Reaktion der iPLEX-Reaktion werden statt Desoxyribonucleotiden (dNTP) Dideoxyribonukleotide eingesetzt (ddNTP). Daher müssen die dNTPs vor der Reaktion inaktiviert werden. Dies erfolgt durch eine Dephosphorylierung mittels Alkaliner Phos-

phatase aus Shrimps (SAP). Die dazu verwendeten Materialien sind in Tabelle 7 (Seite 36) zusammengestellt.

Das PCR-Produkt wurde zusammen mit der SAP in einem geeigneten Puffer inkubiert (Tabelle 8). Mit einem Pipettierroboter wurden 2 µl des SAP-Mastermix zu den PCR-Produkten gegeben, gemischt, abzentrifugiert und in einem Thermocycler inkubiert. Die Reaktion erfolgte während einer Inkubation von 40 min bei 37 °C, danach wurde die SAP bei 85°C 10 min lang inaktiviert. Es folgte die Kühlung auf 4°C bis zur weiteren Verwendung der Proben.

Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte SAP-Reaktion

Material, Reagenz, Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
Gene Amp PCR Sstem 9700	Multiplex-PCR	Applied Biosystems, Foster City, USA
Multimek Pipettierroboter	Zugabe des Multiplex Extend Mastermix	Beckmann, Fullerton, USA
SAP-Puffer	Dephosphorylierung unkorporierter dNTPs	Sequenom, San Diego, USA
Shrimp Alkaline Phosphatase	Dephosphorylierung unkorporierter dNTPs	Sequenom, San Diego, USA

Tabelle 8: Zusammensetzung der Dephosphorylierungs-Reaktion

Reagenz	Volumen für 1 Reaktion (incl. 25 % Überhang)	Mastermix für 384 Reaktionen (incl. 25 % Überhang)
H ₂ O	1,530 µl	734,4 µl
10x SAP Puffer	0,170 µl	81,6 µl
SAP Enzym	0,300 µl	144,0 µl
Endvolumen	2,000 µl	960,0 µl

3.6.4 iPLEX Primerextension

Bei einer iPLEX-Reaktion wird nur ein Primer je SNP eingesetzt. Dieser bindet unmittelbar 5' des SNPs an die DNA und wird während der Reaktion lediglich um die dem SNP komplementäre Base verlängert. Dies wird durch den Einsatz von ddNTPs erreicht, an die keine weitere Base mehr gebunden werden kann.

Die Reagenzien, die für die Primer-Extension-Reaktion des *iPLEX* eingesetzt wurden, sind in Tabelle 9 (Seite 37) zusammengefasst. Nach der Kombination aller Reagenzien für die *iPLEX*-Reaktion (Tabelle 10, Seite 37) wurden die Reaktionsansätze einer modifizierten PCR-Reaktion unterzogen (Tabelle 11, Seite 37).

Tabelle 9: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die Multiplex Primerextensionreaktion

Material / Reagenz / Gerät	Hersteller
iPLEX Puffer Plus	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Enzym	Sequenom, San Diego, USA
iPLEX Terminationsmix	Sequenom, San Diego, USA
Extensionsprimer	Metabion, Martinsried
GeneAmp PCR System 9700	Applied Biosystems, Foster City, USA

Tabelle 10: Reagenzien für das *iPLEX*-Verfahren.

Reagenz	Konzentration/ 9 μ l	Volumen pro Reaktion	Mastermix für 384 Reaktionen
H ₂ O		0,755 μ l	362,40 μ l
iPLEX Puffer plus 10x	0,222 x	0,200 μ l	96,00 μ l
iPLEX Termination Mix	1 x	0,200 μ l	96,00 μ l
Primer Mix (7 μ M-14 μ M)	0,625 μ M bis 1,25 μ M	0,804 μ l	385,92 μ l
iPLEX Enzym	1 x	0,041 μ l	19,68 μ l
Gesamt		2,000 μ l	960,00 μ l

Je 2 μ l des Mastermix wurden zu jeder SAP-behandelten Probe gegeben. Daraufhin wurden die Platten wieder abzentrifugiert und im Thermocycler inkubiert (Tabelle 11).

Tabelle 11: *iPLEX*-Temperaturprogramm

Temperatur	Zeit	Wiederholung	Zyklen
94°C	30 s		1
94°C	5 s		} 45
52°C	5 s	}	

80°C	5 s		
72°C	3 min		1
4°C	unbegrenzt		1

Um Interferenzen der Extensionsprodukte mit bestimmten Ionen zu verhindern, wurden die Extensionsprodukte nach der Primerextension-Reaktion entsalzt (Clean Resin, Sequenom, San Diego, USA).

3.6.5 MALDI-TOF

Die *MALDI-TOF* Methode zur Genotypisierung benutzt das Prinzip der Massenspektrometrie. Dazu wurden die Produkte der iPLEX-Reaktion nach einer Entsalzung zusammen mit Substanzen bekannter Masse und Ladung als Standards auf einen Probenträger aufgebracht. Der Probenträger war ein Siliziumchip mit 384 bereits aufpräparierten Matrixpunkten und 8 Kalibrandenspots für einen Dreipunkt-Kalibranden. Diese enthielten drei festgelegte Substanzen mit bekannten Massen. Alle verwendeten Materialien und Reagenzien sind in Tabelle 12 zusammengefasst.

Tabelle 12: Verbrauchsmaterialien, Geräte und Software für die Messung der Extensionsprodukte im MALDI-TOF-MS.

Material, Reagenz, Gerät	Verwendungszweck	Hersteller
3-Punkt Kalibrant	Kalibrierung der Massenspektren	Sequenom, San Diego, USA
SpectroCHIP	Probenträger mit <i>Matrixdroplets</i>	Sequenom, San Diego, USA
MassARRAY POINT Nanodispenser	Applikation der Extensionsprodukte auf SpectroCHIP	Sequenom, San Diego, USA
MassARRAY Analyzer 4	Massenspektrometrische Analyse der Extensionsprodukte	Agena Bioscience, Hamburg
TyperAnalyzer 3.4.0.18	Spektrenauswertung	Sequenom, San Diego, USA

Die Proben wurden mit einem Nanodispenser mit Edelstahlnadeln aus der 384 *well* Platte auf den Chip übertragen. Der Siliziumchip wurde in das Massenspektrometer eingeschleust wo die Matrixpunkte im Hochvakuum mehrmals einige Nanosekunden von einem gepulsten Ionen-Laser (N₂, 337 nm) bestrahlt wurden. Dadurch erfolgt die Desorption der Neutralteilchen aus der kondensierten Phase und der Analyt geht in die gasförmige Phase über. Die

ebenfalls durch die Bestrahlung entstehende Ionisation ist entscheidend für die *TOF*-Spektrometrie.

Die aus der *MALDI*-Reaktion entstandenen ionisierten Extensionsprodukte werden in einem elektrischen Feld beschleunigt. Von ihrer gemessenen Flugzeit (*TOF*, *time of flight*) lässt sich auf ihre Masse rückschließen. Gleichen sich Ionen in ihrem Verhältnis von Masse zu Ladung weisen sie auch die gleiche *TOF* auf, diese ist umgekehrt proportional zu der Masse der Ionen. So ist es möglich anhand der in der TyperAnalyzer Software analysierten Flugzeit die jeweiligen Einzelnukleotide und somit auch den Genotyp über die SNPs zu identifizieren.

3.7 Qualitätskontrolle

Folgende Qualitätskriterien musste ein SNP-Ergebnis nach dem MALDI/TOF erfüllen, um in die statistische Auswertung aufgenommen zu werden:

1. In der Typer Analyzer Software erstellte Clusterplots mussten sauber getrennte Genotypcluster zeigen.
2. Blindproben durften keine Genotypen zugewiesen worden sein
3. Identische Kontrollproben auf unterschiedlichen Chip-Positionen mussten identische Genotypen aufweisen
4. Mindestens 80 % aller untersuchten SNPs in einem Plex mussten einen auswertbaren Genotyp ergeben (Probanden Callrate)
5. Mindestens 90 % aller untersuchten Probanden müssen für einen SNP auswertbare Genotypen aufweisen (SNP Callrate)
6. Mitprozessierte Kontrollproben (CEPH-Proben) mussten die zu erwartenden Genotypen aufweisen (The International HapMap Consortium, 2003).
7. Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht mit $p < 10^{-5}$ wurden verworfen, geringere Abweichungen im weiteren Verlauf genau geprüft.

3.8 Statistische Datenauswertung

Die Datenauswertung erfolgte quantitativ-statistisch mithilfe des *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS, Version 18.0, Chicago, 2009). Zunächst wurden einfaktorielle Varianzanalysen (ANOVA, *analysis of variance*) getrennt für die abhängigen Variablen Gesamt-Intelligenzquotient, den Handlungs- und den Verbal-IQ durchgeführt. Weiterhin wurden die Variablen Allel und Genotyp als unabhängige Faktoren integriert, wobei der Bildungsstandard (gering, mittel und hoch, erfasst durch den Schulabschluss) und Geschlecht kontrolliert wurde. Aufgrund der Berücksichtigung des Alters in den IQ-Werten des HAWIE-R (Alterskorrekturen) wurde der Faktor Alter bei diesem Berechnungsschritt nicht berücksichtigt.

Des Weiteren wurden multivariate Varianzanalysen berechnet, wobei hier die Rohwerte der 11 Untertests des HAWIE-R als Effektgrößen (abhängige Variablen) eingesetzt wurden. Als unabhängige Faktoren wurden Genotyp bzw. Allele verwendet, bei Kontrolle der Faktoren Alter, Geschlecht und Bildungsgrad.

Als Signifikanzniveau wurde eine Wahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ festgelegt, $p < 0,1$ wurde als Trend gewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Stichprobe

Um den Einfluss der beiden SNPs rs3206824 und rs7480000 im Gen *DKK3* auf die Intelligenz einer Person feststellen zu können, wurden zufällig 2452 (1122 männlich und 1330 weiblich) volljährige Münchner ohne Migrationshintergrund ausgewählt. Die Probanden waren zwischen 18 und 70 Jahre alt. Diese unterzogen sich zunächst einem Intelligenztest. Weiterhin wurde von den Probanden Blut genommen, um die Zugehörigkeit zu den unterschiedlichen Allelgruppen des *DKK3* feststellen zu können. Ziel war festzustellen, ob die beiden SNPs einen Einfluss auf die Intelligenzleistung der Probanden hat.

4.2 Beschreibung der Polymorphismen

DKK3 befindet sich auf Chromosom 11 (Position 11.98–12.03 Mb) und besteht aus 9 Exons (Abbildung 7). Dabei werden alternative Spleißvorgänge angenommen, die jedoch noch nicht explizit nachgewiesen wurden. SNP rs3206824 befindet sich in Exon 9 und führt zu einem A/G Austausch. Dies führt zu einer *Missense*-Mutation im Protein. Die Aminosäure Arginin wird durch Glycin ersetzt. Der SNP rs7480000 bezeichnet einen Austausch von Cytosin zu Guanin. Dabei handelt es sich um einen intronischen Bereich zwischen den Exons 7 und 8, der sich nicht auf die Proteinsequenz auswirkt (Abbildung 7).

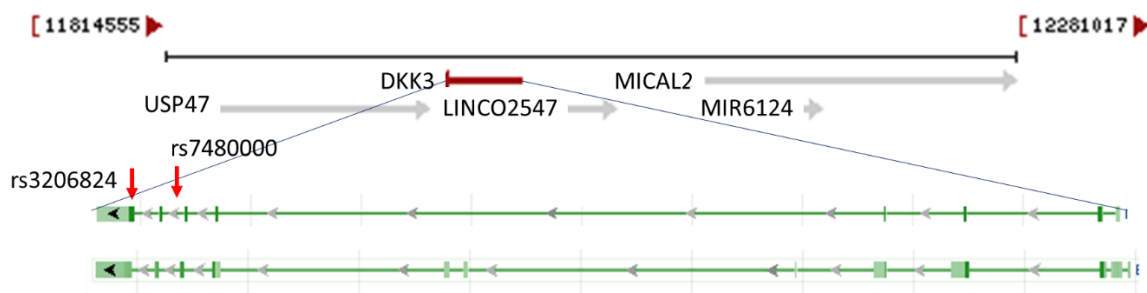


Abbildung 7: Lokalisation von *DKK3* auf Chromosom 11 und Lage von rs3206824 und rs7480000

Rote Pfeile: Lage des rs3206824 bzw. rs7480000; schwarz: DNA-Ebene; grün: RNA-Ebene; hellgrün: nicht codierende mRNA-Bereiche; dunkelgrün: codierende mRNA-Bereiche, *DKK3*: Dickkopf 3; USP47: ubiquitinspezifische Peptidase 47; MICAL2: Microtubuli-assoziierte Monooxygenase, Calponin und LIM Domänen enthaltend 2; MIR6124: microRNA 6124; LINCO2547: lange intergenische nicht proteincodierende RNA 2547. (NCBI 2017c)

4.3 Ergebnisse der Fall-Kontroll-Assoziationsstudie

4.3.1 Polymorphismus rs3206824

4.3.1.1 Allelfrequenzen

Die deskriptiven Daten zur Verteilung der Allele des SNP rs3206824 bei den Studienteilnehmern (Tabelle 13) zeigen, dass das G-Allel in der Stichprobe wesentlich häufiger vertreten ist als das A-Allel.

Tabelle 13: Häufigkeitsverteilung der Allele von rs3206824

Allel	A	G	Gesamt
Absolute Anzahl	665	1787	2452
Anteil an der Stichprobe	27,12 %	72,88 %	100,00 %

Zur Feststellung der Assoziation der Allele mit der Intelligenz wurden Varianzanalysen gerechnet, wobei die Intelligenztestwerte in Form des Gesamt-Testwertes und die Testwerte für den Verbal-IQ und den Handlungs-IQ des HAWIE-R als abhängige Variablen und die Allele als unabhängige Faktoren berücksichtigt wurden (Tabelle 14). Demnach konnte für die Assoziation der Allele und Intelligenztestwerte keine signifikanten Ergebnisse festgestellt werden.

Tabelle 14: Assoziation der Allele des rs3206824 zur Intelligenz (HAWIE-R Summenskalen)

Intelligenztestwerte	Allele [MW (SD)]		F	df	p
	A	G			
	(n = 665)	(n = 1787)			
Verbal-IQ	112,06 (13,929)	112,27 (14,237)	0,293	1/2446	0,558
Handlungs-IQ	111,96 (14,001)	111,86 (14,822)	0,235	1/2446	0,628
Gesamt-IQ	114,13 (14,442)	114,25 (15,052)	0,002	1/2446	0,961

n: Anzahl der Allele, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung; F: Kennwert der Varianzanalyse; df: Freiheitsgrade; p: Signifikanzniveau.

Daraufhin wurden multivariate Varianzanalysen mit den Allelen als unabhängige Variablen und den 11 Untertests des HAWIE-R (Rohwerte) als abhängigen Variablen unter Kontrolle von Alter, Geschlecht und Bildungsstand durchgeführt (Tabelle 15).

Tabelle 15: Assoziation der Allele des rs3206824 zur Intelligenz (Rohwerte der 11 Untertests)

Intelligenztestwerte	Allele [MW (SD)]		F	df	p
	A (n = 665)	G (n = 1787)			
Allgemeines Wissen	17,24 (3,732)	17,04 (3,960)	0,852	1/2446	0,356
Zahlen Nachsprechen	14,59 (3,907)	14,74 (3,990)	0,191	1/2446	0,662
Wortschatz-Test	22,68 (5,093)	22,83 (5,106)	0,749	1/2446	0,387
Rechnerisches Denken	13,78 (3,425)	13,82 (3,324)	0,288	1/2446	0,591
Allgemeines Verständnis	21,58 (2,963)	21,53 (3,277)	0,156	1/2446	0,693
Gemeinsamkeiten Finden	26,40 (3,889)	26,46 (4,126)	0,003	1/2446	0,960
Bilder Ergänzen	13,43 (2,899)	13,51 (2,743)	0,040	1/2446	0,841
Bilder Ordnen	27,91 (11,528)	28,05 (11,914)	0,450	1/2446	0,504
Mosaik-Test	32,72 (9,421)	32,86 (9,616)	0,511	1/2446	0,475
Figuren Legen	30,96 (5,899)	31,01 (6,024)	0,532	1/2446	0,466
Zahlen-Symbol-Test	54,43 (13,074)	55,43 (13,533)	0,402	1/2446	0,526

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung; F: Kennwert der Varianzanalyse; df: Freiheitsgrade; p: Signifikanzniveau

Demnach konnte für die Assoziation der Allele und der einzelnen Subtests ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse festgestellt werden.

4.3.1.2 Genotyp-Verteilung

Die deskriptiven Daten zur Verteilung der Genotypen von rs3206824 bei den Studienteilnehmern (Tabelle 16) zeigen, dass der homozygote Genotyp GG bei über der Hälfte der

Stichprobe vorhanden ist, während AA mit 7,02 % den geringsten Anteil an der Stichprobe ausmacht.

Tabelle 16: Häufigkeitsverteilung der Genotypen von rs3206824

Genotyp	AA	AG	GG	Gesamt
Absolute Anzahl	86	493	647	1226
Anteil an der Stichprobe	7,02 %	40,21 %	52,77 %	100,00 %

Die Überprüfung der Genotypverteilung in der Probandenstichprobe im Vergleich zur Genotypverteilung in einer idealen Stichprobe erfolgte mit dem Chi²-Test. Das Hardy-Weinberg Gleichgewicht (HWE) für den SNP rs3206824 ist Chi²=0,36, df=1, p=0,55. Damit weicht die Stichprobe nicht signifikant vom HWE ab.

Zum Nachweis signifikanter Assoziationen der Genotypen mit der Intelligenz wurden die gleichen Berechnungsschritte durchgeführt, wie sie in den vorangegangenen Abschnitten zu den Allelen beschrieben worden sind. Zunächst wurden die drei Genotypen als unabhängige Faktoren und die Intelligenztestwerte in Form des Gesamt-Testwertes und der Testwerte für den Verbal-IQ und den Handlungs-IQ des HAWIE-R als abhängige Variablen eingesetzt (Tabelle 17).

Tabelle 17: Assoziation der Genotypen des rs3206824 zur Intelligenz (HAWIE-R Summenskalen)

Intelligenztestwerte	Genotyp [MW (SD)]			F	df	p
	AA (n = 86)	AG (n = 493)	GG (n = 647)			
Verbal-IQ	111,35 (14,616)	112,30 (13,704)	112,26 (14,446)	0,159	2/1218	0,853
Handlungs-IQ	111,06 (13,921)	112,27 (14,043)	111,70 (15,117)	0,347	2/1218	0,707
Gesamt-IQ	113,34 (15,010)	114,41 (14,260)	114,19 (15,354)	0,030	2/1218	0,970

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung; F: Kennwert der Varianzanalyse; df: Freiheitsgrade; p: Signifikanzniveau

Tabelle 18: Assoziation der Genotypen des rs3206824 zur Intelligenz (Rohwerte der 11 Untertests)

Intelligenztestwerte	Genotyp [MW (SD)]	F	df	p
----------------------	-------------------	---	----	---

	AA (n = 86)	AG (n = 493)	GG (n = 647)			
Allgemeines Wissen	17,17 (3,51)	17,26 (3,814)	16,95 (4,014)	0,428	2/1218	0,652
Zahlen nachsprechen	14,48 (4,211)	14,63 (3,804)	14,79 (4,062)	0,100	2/1218	0,905
Wortschatz-Test	22,29 (5,423)	22,82 (4,977)	22,84 (5,158)	0,450	2/1218	0,637
Rechnerisches Denken	13,30 (3,604)	13,95 (3,352)	13,77 (3,315)	0,953	2/1218	0,386
Allgemeines Verständnis	22,07 (2,893)	21,40 (2,974)	21,58 (3,387)	2,651	2/1218	0,071+
Gemeinsamkeiten Finden	25,97 (4,296)	26,55 (3,735)	26,42 (4,268)	0,581	2/1218	0,560
Bilder ergänzen	13,31 (2,952)	13,47 (2,885)	13,52 (2,689)	0,023	2/1218	0,977
Bilder Ordnen	27,74 (11,627)	27,97 (11,517)	28,09 (12,071)	0,219	2/1218	0,803
Mosaik-Test	32,40 (9,385)	32,84 (9,451)	32,86 (9,686)	0,376	2/1218	0,687
Figuren Legen	30,88 (6,429)	30,99 (5,717)	31,01 (6,141)	0,376	2/1218	0,687
Zahlen-Symbol-Test	52,45 (12,881)	55,12 (13,096)	55,55 (13,704)	2,321	2/1218	0,099+

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung F: Kennwert der Varianzanalyse; df: Freiheitsgrade; p: Signifikanzniveau; +: $p \leq ,100$; gewertet als Trend

Laut dieser Ergebnisse kann für die Assoziation der Genotypen und der allgemeinen Intelligenztestwerte keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Im Weiteren sind die Ergebnisse der Varianzanalysen mit dem Faktor Genotyp als unabhängige Variable und den 11 Untertests des HAWIE-R (Rohwerte) als abhängige Variable dargestellt (Tabelle 18). Demnach konnte für die Assoziation der Genotypen mit den 11 Untertests ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse festgestellt werden, allerdings zeigte sich für die Untertests Allgemeines Verständnis sowie beim Zahlen-Symbol-Test ein Trend zur Signifikanz.

4.3.2 Polymorphismus rs7480000

4.3.2.1 Allelfrequenzen

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Berechnungen zu rs7480000 dargestellt. Die Häufigkeitsverteilung der Allele von rs7480000 zeigen, dass Allel C in der Stichprobe mit knapp 60 % ein leichtes Übergewicht hat (Tabelle 19).

Tabelle 19: Häufigkeitsverteilung der Allele von rs7480000

Allel	C	G	Gesamt
Absolute Anzahl n	1439	961	2400
Anteil an der Stichprobe	59,96 %	40,04 %	100,00 %

Im Folgenden wurden Varianzanalysen durchgeführt, um eine Assoziation der Allele mit den Allgemeinen Intelligenzwerten nachzuweisen, bei Berücksichtigung von Verbal-IQ, Handlungs-IQ sowie Gesamt-IQ des HAWIE-R als abhängige Variablen und die Allele als unabhängige Variablen (Tabelle 20). Laut der Varianzanalyse konnte kein signifikanter Einfluss der Allele auf die Ergebnisse der Intelligenztestwerte festgestellt werden.

Tabelle 20: Assoziation der Allele des rs7480000 zur Intelligenz (HAWIE-R Summenskalen)

Intelligenztestwerte	Allele [MW (SD)]		F	df	p
	C (n = 1439)	G (n = 961)			
Verbal-IQ	112,05 (14,210)	112,30 (14,235)	0,374	1/2394	0,541
Handlungs-IQ	111,88 (14,907)	111,81 (14,180)	0,750	1/2394	0,387
Gesamt-IQ	114,07 (15,010)	114,27 (14,847)	0,588	1/2394	0,443

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung; F: Kennwert der Varianzanalyse; df: Freiheitsgrade; p: Signifikanzniveau

Weiterhin wurde eine potentielle Assoziation der Allele und der 11 Untertests des HAWIE-R untersucht (Tabelle 21). Demnach ließ sich eine signifikante Assoziation von Allel und dem

Untertest Zahlennachsprechen finden. Bei der Assoziation Allel - Mosaiktest ließ sich darüber hinaus ein Trend feststellen.

Tabelle 21: Assoziation der Allele des rs7480000 zur Intelligenz (Rohwerte der 11 Untertests)

Intelligenztestwerte	Allele [MW (SD)]		F	df	p
	C (n = 1439)	G (n = 691)			
Allgemeines Wissen	17,00 (3,970)	17,26 (3,757)	9,277	1/2394	0,347
Zahlen Nachsprechen	14,79 (4,000)	14,47 (3,911)	8,055	1/2394	0,005**
Wortschatz-Test	22,70 (5,084)	22,88 (5,186)	0,055	1/2394	0,814
Rechnerisches Denken	13,81 (3,319)	13,77 (3,412)	7,245	1/2394	0,383
Allgemeines Verständnis	21,46 (3,256)	21,63 (3,149)	0,432	1/2394	0,511
Gemeinsamkeiten Finden	26,30 (4,205)	26,59 (3,919)	0,963	1/2394	0,327
Bilder Ergänzen	13,47 (2,797)	13,51 (2,776)	0,044	1/2394	0,834
Bilder Ordnen	27,94 (11,910)	28,16 (11,658)	0,191	1/2394	0,662
Mosaik-Test	32,89 (9,542)	32,64 (9,595)	3,219	1/2394	0,073*
Figuren Legen	30,95 (5,973)	30,97 (5,961)	0,269	1/2394	0,604
Zahlen-Symbol-Test	54,97 (13,495)	55,26 (13,329)	0,120	1/2394	0,729

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung F: Kennwert der Varianzanalyse; df: Freiheitsgrade; p: Signifikanzniveau, *: $p \leq 0,100$; gewertet als Trend, **: $p \leq 0,010$; statistisch signifikant auf 1 %-Niveau

4.3.2.2 Genotyp-Verteilung

Die deskriptiven Daten zur Verteilung der Genotypen von rs7480000 bei den Studienteilnehmern (Tabelle 22, Seite 47) zeigen, dass der Genotyp GG mit etwa 16 % den geringsten Anteil in der Stichprobe ausmachte, gefolgt von CC mit 35,6 % und CG mit 48,8 %.

Tabelle 22: Häufigkeitsverteilung der Genotypen von rs7480000

Genotyp	C	CG	GG	Gesamt
---------	---	----	----	--------

Absolute Anzahl	427	585	188	1200
Anteil an der Stichprobe	35,58 %	48,75 %	15,67 %	100,00 %

Die Überprüfung der Genotypverteilung in der Probandenstichprobe im Vergleich zur Genotypverteilung in einer idealen Stichprobe erfolgte mit dem Chi²-Test. Das Hardy-Weinberg Gleichgewicht (HWE) für den SNP rs7480000 ist Chi²=0,28, df=1, p=0,60. Damit weicht die Stichprobe nicht signifikant vom HWE ab.

Weiterhin wurden mithilfe von Varianzanalysen die Assoziationen der Genotypen mit der Intelligenz berechnet, wobei die drei Genotypen als unabhängige Faktoren und die Intelligenztestwerte (Gesamt-IQ, Verbal-IQ, Handlungs-IQ) des HAWIE-R als abhängige Variablen eingesetzt wurden (Tabelle 23).

Tabelle 23: Assoziation der Genotypen des rs7480000 zur Intelligenz (Verbal-IQ, Handlungs-IQ, Gesamt-IQ)

Intelligenztestwerte	Genotyp [MW (SD)]			F	df	p
	CC (n = 427)	CG (n = 585)	GG (n = 188)			
Verbal-IQ	111,86 (14,205)	112,31 (14,236)	112,29 (14,272)	0,382	2/1192	0,683
Handlungs-IQ	111,63 (15,200)	112,25 (14,488)	111,13 (13,697)	0,443	2/1192	0,642
Gesamt-IQ	113,77 (14,926)	114,51 (15,146)	113,90 (14,40)	0,274	2/1192	0,760

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung; F: Kennwert der Varianzanalyse; df: Freiheitsgrade; p: Signifikanzniveau

Laut den Ergebnissen der Varianzanalyse wurden für die Assoziation der Genotypen und der allgemeinen Intelligenztestwerte keine signifikanten Werte nachgewiesen.

Weiterhin wurden Varianzanalysen mit dem Faktor Genotyp als unabhängiger Variable und den 11 Untertests des HAWIE-R (Rohwerte) als abhängiger Variablen berechnet (Tabelle 24).

Tabelle 24: Assoziation der Genotypen des rs7480000 zur Intelligenz (Rohwerte der 11 Untertests)

Intelligenztestwerte	Genotyp [MW (SD)]			F	df	p
	CC (n = 427)	CG (n = 585)	GG (n = 188)			
Allgemeines Wissen	16,84 (4,054)	17,24 (2,838)	17,28 (3,636)	0,418	2/1192	0,659
Zahlen Nachsprechen	14,94 (3,929)	14,57 (4,095)	14,30 (3,609)	4,371	2/1192	0,013*
Wortschatz-Test	22,54 (5,021)	22,93 (5,173)	22,79 (5,217)	0,039	2/1192	0,962
Rechnerisches Denken	13,76 (3,230)	13,88 (3,450)	13,60 (3,355)	0,487	2/1192	0,615
Allgemeines Verständnis	21,43 (3,256)	21,50 (3,260)	21,84 (2,964)	1,299	2/1192	0,273
Gemeinsamkeiten Finden	26,17 (4,340)	26,48 (4,002)	26,76 (3,789)	0,673	2/1192	0,510
Bilder Ergänzen	13,38 (2,753)	13,60 (2,859)	13,38 (2,643)	0,137	2/1192	0,872
Bilder Ordnen	27,85 (12,061)	28,07 (11,706)	28,30 (11,613)	0,732	2/1192	0,481
Mosaik-Test	32,71 (9,569)	33,15 (9,513)	31,84 (9,693)	1,909	2/1192	0,149
Figuren Legen	30,74 (6,165)	31,26 (5,677)	30,52 (6,369)	1,001	2/1192	0,368
Zahlen-Symbol-Test	54,72 (13,560)	55,33 (13,414)	55,13 (13,229)	0,057	2/1192	0,945

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, *: F: Kennwert der Varianzanalyse; df: Freiheitsgrade; $p \leq 0,050$; statistisch signifikant auf 5 %-Niveau.

Für die Assoziation der Genotypen mit den 11 Untertests des HAWIE-R konnte für den Test Zahlen nachsprechen eine Signifikanz nachgewiesen werden.

5 Diskussion

Die hier vorgestellte Assoziationsstudie hatte zum Ziel, signifikante Zusammenhänge zwischen zwei Polymorphismen des *DDK3*-Gens (rs3206824 und rs7480000) und den kognitiven Leistungen der Probanden, gemessen mit dem Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE-R), zu überprüfen. Dazu wurden jeweils die Ausprägungen der Allele und der Genotypen mit den Ergebnissen des Gesamttests (IQ-Werte), den Werten jeweils des Handlungs- und Verbalteils des HAWIE-R sowie getrennt nach den elf Untertests des HAWIE-R als Faktoren in die varianzanalytische Untersuchung einbezogen.

Es zeigte sich, dass der SNP rs3206824 in keinem Zusammenhang mit den getesteten Intelligenzleistungen steht. Weder der Verbal-IQ noch der Handlungs-IQ oder der Gesamt-IQ war statistisch signifikant mit der Allelfrequenz des SNP assoziiert. Auch bei den einzelnen Untertests des HAWIE-R konnten keine statistisch signifikanten Assoziationen festgestellt werden.

Zwar war auch der SNP rs7480000 nicht mit dem Verbal-, Handlungs- oder Gesamt-IQ assoziiert, dennoch konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Allelausstattung und den beiden HAWIE-R-Untertests „Zahlen nachsprechen“ und „Mosaiktest“ nachgewiesen werden. Diese Assoziation war beim Untertest Zahlen nachsprechen auch auf der Ebene des Genotyps signifikant. Beim Mosaiktest konnte auf der Genotypebene die Korrelation nicht verifiziert werden.

Die in der Untersuchung verwendete Methodik der Genotypisierung ist bereits in vorangegangenen Studien der Arbeitsgruppe angewandt worden (Sigurdardottir et al., 2016). Die Stichprobe wurde nach Kriterien der Repräsentativität im Großraum München rekrutiert und ist hinsichtlich Alter und Geschlecht mit der Grundgesamtheit vergleichbar. Mithilfe von Vorab-Screenings wurden Personen mit körperlichen und psychischen Erkrankungen, deren Symptome womöglich einen Einfluss auf die Ergebnisse hätten haben können, ausgeschlossen. Eine hundertprozentige Sicherheit zum Ausschluss von Erkrankungen wurde auf dieser Grundlage allerdings nicht erreicht, die Anzahl jedoch stark minimiert.

Mit dem HAWIE-R wurde ein Intelligenztestverfahren gewählt, das hinsichtlich seiner Gütekriterien robust ist (Tewes, 1994) und dessen Nachfolger WAIS-IV in Deutschland immer noch zu den am häufigsten verwendeten Verfahren zählt (Myers, 2014). Auf diese Weise lassen sich die Ergebnisse gut mit denen anderer Studien vergleichen. Der am häufigsten genannte Kritikpunkt an diesem Verfahren ist die Kulturabhängigkeit vieler Testresultate, womit die Intelligenztestleistung verfälscht würde (Stemmler et al., 2016). In dieser Untersuchung wurden allerdings nur Personen des deutschen Kulturkreises ohne Migrationshintergrund rekrutiert. Auf diese Weise konnte dieser Bias konstant gehalten werden, sodass von

einer Verzerrung einzelner Resultate nicht auszugehen ist. Zudem spielten interindividuelle Unterschiede der Intelligenztestleistungen in der Untersuchung keine Rolle.

Die Probanden, die an dieser Studie teilnahmen, hatten einen vergleichsweise hohen durchschnittlichen IQ. Als normal intelligent gelten Personen mit einem IQ zwischen 85 und 115. Die Probanden lagen jedoch in ihrem Gesamt-IQ zwischen 78 und 146 (Median 114). Damit ist ein Vergleich der Auswirkungen der einzelnen SNPs auf die deutsche Gesamtbevölkerung nur eingeschränkt möglich. Es besteht ein eindeutiger Bias in Richtung der höheren Intelligenzwerte. Gründe dafür können unterschiedlich sein. Möglicherweise sind Personen, die sich einer höheren kognitiven Leistung bewusst sind, eher dazu bereit, an einer Studie mitzuwirken, bei der ihr IQ ermittelt wird. Personen, die von sich annehmen, keine hohe Intelligenz zu haben, scheuen eher davor zurück, ihre unterdurchschnittlichen geistigen Fähigkeiten durch einen Test definitiv attestiert zu bekommen, was in die Auswertung als Kovariate mit einfließt.

Darüber hinaus verändert sich die Intelligenzleistung im Laufe des Lebens. Personen, die älter als 55 Jahre sind, zeigen eine starke Abnahme der Leistungen in Intelligenztests (Petersman und Lepach, 2012). Auch dies wurde im Rahmen der hier zugrunde liegenden Studienkohorte berücksichtigt. Die Summenskalen des HAWIE-R sind bereits alterskorrigiert, in den Subskalen wurde das Alter als Kovariate in die Rechnung miteinbezogen.

Weibliche Teilnehmer schneiden in IQ-Tests meist besser im verbalen Bereich und männliche Teilnehmer besser beim räumlichen Vorstellungsvermögen ab. Daher sollten die entsprechenden Berechnungen ebenfalls getrennt für die beiden Geschlechter durchgeführt werden. Da allerdings in den entsprechenden Untertests des HAWIE-R kein signifikanter Einfluss der SNPs auf diese Bereiche erkennbar war, wurde auf eine geschlechtsspezifische Unterscheidung und Berechnung verzichtet. Mögliche marginale geschlechtsspezifische Assoziationen sowie Assoziationen, die zwischen Männern und Frauen gegenläufige Ergebnisse zeigen, sind allerdings in diesem Fall nicht detektierbar.

Weiterhin ist die Intelligenz ein komplexer Phänotyp, der von einer Vielzahl von Einflussfaktoren abhängt. Die polygenetische Struktur der Intelligenz erschwert dabei die Isolation der einzelnen Faktoren. Nach den aktuellen Publikationen beeinflussen 336 SNPs in 18 Loci deutlich die Intelligenzleistung (Sniekers et al., 2017). Allerdings liegt keiner der Loci auf Chromosom 11, somit muss davon ausgegangen werden, dass die Effekte, die eine Variation im *DDK3-Gen* verursacht, eher gering sind. Diese Effekte können, vor allem bei rs748000, das in einem Intron liegt, unter anderem für Modifikationen sorgen, die nicht mit der Primärsequenz als solche zusammenhängen. Dazu zählen vor allem Methylierungen, Spleißvarianten und posttranslationale Modifikationen. Da im Verlauf dieser Studie jedoch die geno-

mische Sequenz als einzige Variable in Betracht gezogen wurde, ist es möglich, dass dadurch der eigentliche Wirkmechanismus des SNPs unerkannt bleibt. Der SNP rs3206824 liegt dagegen in der codierenden Sequenz. Der dadurch ausgelöste Aminosäureaustausch kann die Funktion des DKK3 auch direkt beeinflussen.

In der europäischen Bevölkerung liegen bei rs3206824 24,3 % der Allele in der A-Form vor, 75,75 % in der G-Form, in der afrikanischen Bevölkerung dagegen liegen nur 18,46 % der Allele als A-Form und 81,54 % als G-Form vor (Tabelle 25; NCBI, 2017a). Die G-Form gilt als ursprüngliches Allel. In der europäischen Bevölkerung sind lediglich 3,5 % homozygot für die A-Variante des rs3206824, 41,6 % sind heterozygot und 54,9 % sind homozygote Träger des G/C-Allels (NCBI, 2017a).

Tabelle 25: Allelfrequenzen für rs3206824 in unterschiedlichen Populationen (NCBI 2017a)

Population	Probenumfang (2n)	A/T-Allel [%]	G/C-Allel [%]
Ostasien	1008	20,9	79,1
Europa	1006	24,3	75,7
Afrika	1322	18,5	81,5
Amerika	694	12,4	87,6
Südasien	978	16,0	84,1

Die begrenzte Zahl der Probanden reicht insgesamt nicht aus, um den Einfluss der beiden SNPs auf die Intelligenzleistung valide messen zu können. Dazu sind große Stichproben mit mehreren 100.000 Probanden notwendig (Rietveld et al., 2013). In der Studienkohorte war die Verteilung der Allele des SNP rs3206824 unterschiedlich von der Verteilung der Allele. Während in der Studienkohorte lediglich 72,88 % der Allele in der G/C-Form vorlagen, lag dieser Wert bei der Vergleichskohorte bei 75,75 % und damit um 3 Prozentpunkte höher. Im Vergleich zu den Allelfrequenzen der Populationen aus Asien, Afrika oder Amerika lag der Wert in der Studienkohorte um bis zu 14,7 Prozentpunkte niedriger (Tabelle 26, Seite 53). Weiterhin trägt die Gruppe der osteuropäischen Ashkenazi Juden, die vor etwa 1000 Jahren vom Rhein aus nach Osteuropa ausgewandert sind, eine niedrigere Frequenz des A/T-Allels (12,8 %), ebenso wie Bewohner der Toskana (16,5 %) oder Inder aus Gujarat (14,8 %) (Guha et al., 2012). Die globale Frequenz des A-Allels liegt bei 18,8 % (NCBI, 2017a).

Tabelle 26: Genotypverteilung des rs3206824 in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen

Projekt	AA	AG	GG	HWE	n
AFD_EUR_PANEL	0	0,75	0,25	0,752	48
HapMap-CEU	0,03	0,42	0,54	0,200	226
HandMap-JPT	0,10	0,33	0,57	0,150	172
diese Studie	0,07	0,40	0,53	0,55	2452

HWE: Hardy-Weinberg Equilibrium, n: Anzahl der Genome; AFD_EUR_PANEL: 23 nicht verwandte CEPH-Eltern aus Seattle und eine Person aus „Coriell's human variation panel of 50 Caucasians (HD50CAU)“; HandMap-JPT: Japaner aus Tokyo; HapMap-CEU: Einwohner Utahs mit nord- oder westeuropäischen Vorfahren (NCBI, 2017a)

Tabelle 27: Abhängigkeit der Intelligenztestwerte von der Variation rs3206824

Intelligenztestwerte	getesteter Bereich	Faktor Allel	Faktor Genotyp
Verbal-IQ		n. s.	n. s.
Handlungs-IQ		n. s.	n. s.
Gesamt-IQ		n. s.	n. s.
Zahlen nachsprechen	Arbeitsgedächtnis	n. s.	n. s.
Rechnerisches Denken		n. s.	n. s.
Allgemeines Wissen	Sprachverständnis	n. s.	n. s.
Wortschatztest		n. s.	n. s.
Allgemeines Verständnis		n. s.	0,071⁺
Gemeinsamkeiten finden		n. s.	n. s.
Zahlen-Symbol-Test	Verarbeitungsgeschwindigkeit	n. s.	0,099⁺
Bilder ergänzen	Wahrnehmungsgebundenes logisches Denken	n. s.	n. s.
Bilder ordnen		n. s.	n. s.
Mosaiktest		n. s.	n. s.
Figuren legen		n. s.	n. s.

+ : $p \leq .100$; gewertet als Trend; * : $p \leq .050$; statistisch signifikant auf 5%-Niveau; n. s.: nicht signifikant

Sowohl diese Studie als auch die Vergleichsstudien zeigen, dass evolutionär keine Selektion für die Allelkombination AA vorliegt, das ursprüngliche Allel ist G. Diese kann allerdings nicht primär an der Ausbildung und Funktion des Gehirns beteiligt sein. Dagegen sprechen die im Vergleich zu den anderen Allelkombinationen ähnlichen Intelligenzleistungen der AA-Träger. Das A-Allel scheint daher aus einem anderen Grund unterrepräsentiert zu sein. Eine Assoziation zu einer Erkrankung oder Prädisposition ist allerdings noch nicht publiziert.

Zwar zeigt die Ausprägung der allgemeinen Intelligenz keine Assoziation zur Variante des rs3206824, allerdings scheint dieser SNP einen Einfluss auf das allgemeine Sprachverständnis und auf die Verarbeitungsgeschwindigkeit des Gehirns zu haben. Der Zusammenhang erreichte jedoch nicht die statistische Signifikanz, sondern kann lediglich als Trend angesprochen werden (Tabelle 27, Seite 53). Die Faktoren „Arbeitsgedächtnis“ und „wahrnehmungsgebundenes logisches Denken“ zeigen keine Assoziation zu rs3206824. Demnach erzielten homozygote AA-Träger höhere Werte in diesem Untertest als AG-Träger oder GG-Träger.

Die Allelfrequenz für den SNP rs7480000 in der europäischen Bevölkerung wird je nach zugrunde liegender Stichprobe zwischen 0,25 und 0,375 für das minore Allel G angegeben. In der asiatischen Bevölkerung liegt es bei 0,44 und damit etwas höher. Die globale Frequenz des seltenen Allels G wird mit 30,9 % angegeben (NCBI, 2017b). Die Genotypverteilung ist in Tabelle 29 dargestellt.

Der Polymorphismus rs7480000 ist in der europäischen Bevölkerung weitverbreitet. Das C-Allel kommt in 61,43 % vor, das G-Allel in 38,57 % (Tabelle 28; NCBI 2017b). Dabei sind 36,7 % homozygot für das C-Allel, 51,7 % heterozygot und 11,7 % homozygot für das G-Allel (NCBI 2017b).

Tabelle 28: Allelfrequenzen für rs7480000 in unterschiedlichen Populationen (NCBI, 2017b)

Population	Probenumfang (2n)	C/G-Allel [%]	G/C-Allel [%]
Ostasien	1008	62,8	37,2
Europa	1006	61,4	38,6
Afrika	1322	73,5	26,5
Amerika	694	79,0	21,0
Südasien	978	70,4	29,5

Tabelle 29: Genotypverteilung des rs7480000 in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen

Projekt	CC	CG	GG	HWE	n
AFD_EUR_PANEL	0,5	0,5	0	0,29	48
HapMap-CEU	0,37	0,52	0,12	0,44	120
HandMap-YRI	0,43	0,48	0,08	0,44	120
AFD_CHN_PANEL	0,33	0,42	0,25	0,44	48
diese Studie	0,36	0,49	0,16	0,60	2452

HWE: Hardy-Weinberg-Equilibrium, n: Anzahl der Genome; AFD_EUR_PANEL: 23 nicht verwandte CEPH Eltern aus Seattle und eine Person aus „Coriell's human variation panel of 50 Caucasians (HD50CAU)“; HandMap-YRI: Yoruba in Ibadan, Nigeria; HapMap-CEU: Einwohner Utahs mit nord- oder westeuropäischen Vorfahren; AFD_CHN_PANEL: Bewohner von Los Angeles mit chinesischen Vorfahren. (NCBI, 2017b)

Die Anteile der unterschiedlichen Genotypen bei den Studienteilnehmern liegen im Bereich der Werte, die durch HapMap für die europäischstämmige Bevölkerung Utahs bestimmt wurden. Insgesamt sind die homozygoten Träger des minoren Allels unterrepräsentiert. Jedoch existieren ethnische Gruppen, bei denen die homozygoten Träger des minoren Allels noch seltener vorkommen als in der europäischen Bevölkerung. Beim Stamm der Yoruba in Nigeria sind beispielsweise nur 8 % homozygot für das G-Allel. Andererseits trägt etwa ein Viertel der asiatischen Bevölkerung das G-Allel auf beiden Chromosomen.

Die unterschiedlichen Anteile der homozygoten Träger des minoren Allels in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen spricht nicht für einen weitreichenden Vorteil des einen über das andere Allel. Ein derartiger Allelshift in unterschiedlichen Bevölkerungen ist nicht selten. So wurde ein derartiges Phänomen beispielsweise für den SNP rs2228422 in CSFR1 beschrieben (Zhenilo et al., 2015).

Tabelle 30: Abhängigkeit der Intelligenztestwerte von rs7480000

Intelligenztestwerte	getesteter Bereich	Faktor Allel	Faktor Genotyp
Verbal-IQ		n. s.	n. s.
Handlungs-IQ		n. s.	n. s.
Gesamt-IQ		n. s.	n. s.
Zahlen nachsprechen	Arbeitsgedächtnis	0,005**	0,013*
Rechnerisches Denken		n. s.	n. s.
Allgemeines Wissen	Sprachverständnis	n. s.	n. s.
Wortschatztest		n. s.	n. s..
Allgemeines Verständnis		n. s.	n. s.
Gemeinsamkeiten finden		n. s.	n. s.
Zahlen-Symbol-Test	Verarbeitungsgeschwindigkeit	n. s.	n. s.
Bilder ergänzen	Wahrnehmungsgebundenes logisches Denken	n. s.	n. s.
Bilder ordnen		n. s.	n. s.
Mosaiktest		0,073+	n. s.
Figuren legen		n. s.	n. s.

+: $p \leq .100$: gewertet als Trend; *: $p \leq .050$: statistisch signifikant auf 5%-Niveau; **: $p \leq .010$: statistisch signifikant auf 1%-Niveau; n. s.: nicht signifikant

Auch für rs7480000 ließen sich zwischen den Intelligenztestergebnissen und den unterschiedlichen Allelen bzw. Genotypen keine allgemeinen und regelmäßigen Assoziationen nachweisen (Tabelle 30). Es gibt allerdings eine Ausnahme: Der Untertest „Zahlen nachsprechen“ zeigte eine signifikante Assoziation zum Faktor Allel und eine signifikante Assoziation zum Faktor Genotyp. Demnach hatten Personen mit dem C-Allel signifikant höhere Testwerte als Personen mit dem G-Allel, homozygote CC-Träger erzielten höhere Testwerte als heterozygote CG-Träger und diese wiederum höhere Ergebnisse als homozygote GG-

Träger. Weiterhin wurde ein Trend zur Signifikanz bei der Assoziation von „Mosaiktest“ und dem Faktor Allel festgestellt. Auch hier zeigten sich Personen mit Allel C leistungsfähiger (Tabelle 26, Seite 53).

Im Ergebnis lässt sich feststellen, dass eine eindeutige Assoziation zwischen den beiden Polymorphismen des *DKK3* rs3206824 und rs7480000 und der Intelligenzausprägung der Probanden nicht gefunden werden konnte. Demnach kann ein Einfluss des *DKK3* auf die allgemeine Intelligenz durch die Ergebnisse nicht gestützt werden. Allerdings konnten Indikatoren dafür gefunden werden, dass *DKK3*-Polymorphismen mit einzelnen, spezifischen kognitiven Fähigkeiten verbunden waren. So zeigte sich, dass unterschiedliche Werte im Test „Allgemeines Verständnis“ bei den unterschiedlichen Allelträgern des rs3206824 erzielt wurden. Dieser Untertest des HAWIE-R misst die verbale Begriffsbildung, das Denken in Ursache-Folge-Beziehungen sowie die Fähigkeit zur Verbalisierung von Alltagserfahrungen (Tewes, 1994). Hierbei handelt es sich um eine allgemeine Intelligenzfunktion mit Verbindung zu Exekutivfunktionen und Gedächtnisinhalten, die in neokortikalen und hippocampalen Hirnregionen lokalisiert sind, wo *DKK3*-Expressionen nachgewiesen wurden (Ftoun et al., 2005).

Neben der Funktion von *DKK3* im Wnt-Signalweg sind weitere Funktionen des Proteins denkbar, die letztendlich die Leistung des Gehirns beeinflussen können. Es konnte nachgewiesen werden, dass durch das Fehlen des *DKK3* die Regulation der Zellinteraktion gestört ist (Alfonso et al., 2014). Dies wurde *in vitro* an Ntera2-Zellen in Suspension nachgewiesen, die auf die Stimulation durch Retinsäure (Vitamin-A-Säure) mit dem Attachment der Zellen und einer Ausbreitung vorher aggregierter Zellen reagierten. Zellen, die *DKK3* nicht exprimierten, zeigten keine Reaktion auf die Zugabe der Retinolsäure, im Gegensatz dazu wurde durch die *DKK3*-Überexpression die Apoptose eingeleitet. Zellen, die von Natur aus nicht auf die Retinolsäuregabe reagierten, zeigten auch keine Unterschiede aufgrund der unterschiedlichen *DKK3*-Expressionsraten (Alfonso et al., 2014).

Diese Regulation der Zellmorphogenese verläuft vermutlich nicht über den Wnt-Signalweg, sondern über eine *Transforming growth factor* (TGF)- β -abhängige Reaktion. *DKK3* inhibiert die Expression der Metalloproteasen 2 und 9 und hält damit die normale Zellorganisation aufrecht. In PC3-Prostatakrebszellen inhibiert *DKK3* die TGF- β -abhängige Migration und Invasion mittels seiner C-terminalen cysteinreichen Domäne (Romero et al., 2016). Auch die Arbeitsgruppe um Li konnte zeigen, dass eine Überexpression von *DKK3* die Zellproliferation verhindert und gleichzeitig die Apoptose induziert, was auch hier auf die TGF- β 1/SMAD-Signalweiterleitung zurückgeführt wird (Li et al., 2017b).

Der Einfluss von TGF- β 1 auf das Gehirn und seine Verbindung zu Alzheimer ist bekannt, allerdings sind auch hier die genauen Mechanismen noch weitgehend ungeklärt (Zhang et

al., 2016). DKK3 ist ebenfalls in der Zerebrospinalflüssigkeit und dem Plasma bei Alzheimer Patienten erhöht (Zenzmaier et al., 2009). Darüber hinaus zeigt es auch eine Co-Lokalisation mit den Amyloid- β -Plaques der Patienten (Bruggink et al., 2015). Im Zusammenhang mit der möglichen Beteiligung des DKK3 an der TGF- β 1-Signalweiterleitung könnte hier ein möglicher Mechanismus des Einflusses von DKK3 auf die intellektuellen Fähigkeiten beruhen. Mutationen im *DKK3*-Gen könnten daher diese Interaktionen, wenn auch nur geringfügig, beeinflussen und so zu den unterschiedlichen Ergebnissen in den Intelligenzuntersuchen beitragen.

Eine weitere Möglichkeit der Beeinflussung der Expression eines Gens über die Primärsequenz der RNA wäre eine veränderte Transkription über Proteine, die an die fertig prozessierte RNA binden, aber zunächst eine Translation verhindern und damit ebenfalls die Proteinkonzentration modulieren können (Vaklavas et al., 2017).

Ein Einflussfaktor auf die altersbedingte Neurodegeneration und auf kognitive Ausfälle ist auch das Muster der DNA-Methylierung, das sich je nach Zellart, aber auch je nach Alter einer Person verändert (Xu, 2015). Ein möglicher Wirkmechanismus könnte somit ein verändertes DNA-Methylierungsmuster durch die Punktmutation darstellen. Damit wäre ein epigenetischer Einfluss auf die Expression des DKK3 zu erklären (Li und Zhang, 2014). Allerdings liegt rs3206824 nicht in einer CpG-Methylierungsinsel. Weiterhin liegt die Mutation in einem translatierten Exon, nicht in der Promotorregion des *DKK3*. Andererseits kann durch die Mutation von C nach G durch den *rs7480000* eine CpG-Inselle entstehen, die durch Methylierung zu einer epigenetischen Veränderung führt.

Weiterhin liegen die beiden SNPs zwar weit *downstream* des Promotors des *DKK3*-Gens, allerdings gleichzeitig *upstream* und damit auch im Promotorbereich der *LINCO2547*. Dabei handelt es sich um eine lange transkribierte RNA mit bislang unbekannter Funktion. *LINCO2547* liegt auf dem Gegenstrang der genomischen DNA (Abbildung 7, Seite 41). Möglicherweise beeinflusst nicht *DKK3*, sondern *LINCO2547* die Veränderungen in den IQ-Tests.

Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen der Arbeitsgruppe um Danielle Posthuma (Snieder et al., 2017). In ihren Untersuchungen zu 336 SNPs, welche die Intelligenzleistung beeinflussen, fanden sie *rs13010010* in *LINCOL1104* als eindeutig assoziiert. Allerdings geben sie keinen Vorschlag für einen Mechanismus der Wirkung an. Damit zeigt sich, dass nicht nur Proteine, sondern auch RNA in die Ausbildung der Intelligenz mit eingreifen kann. Ein derartiger Mechanismus könnte über einen *in trans* wirkenden Faktor funktionieren, der in unterschiedlichen Zellen unterschiedlich exprimiert wird und damit die Expression weiterer Gene reguliert, die letztendlich für die Ausprägung des Phänotyps verantwortlich sind (Li et al., 2017a). Eine Variante der Wirkung einer RNA wäre als Ribozym, die andere Variante

wäre eine RNA-sequenzspezifische Blockade oder Aktivierung spezieller Gene. Allerdings liegen weder über *LINCOL1104* noch über *LINCOL2547* weitere Informationen vor. Weiterhin liegen die beiden SNPs *upstream* des *MIR6124*. Dieses Gen codiert für eine microRNA, die laut Sniekers und Mitarbeitern (2017) keinen Einfluss auf die Intelligenz hat.

Die Untersuchungen zu den SNPs, die einen Einfluss auf die Intelligenzleistung haben (Sniekers et al., 2017), zeigen, dass sowohl *DKK3* als auch *USP47* (*Ubiquitinspezifische Peptidase 47*) und *MICAL2* (*microtubule associated monooxygenase, calponin and LIM domain containing 2*), die in unmittelbarer Umgebung von *DKK3* liegen, nach der MAGMA-Analyse der Autoren keine Assoziation zur Intelligenzausprägung aufweisen (Sniekers et al., 2017; de Leeuw et al., 2015). Allerdings wurde in dieser Studie lediglich die Gesamtintelligenz berücksichtigt und eine Kohorte mit einem explizit hohen IQ eingeschlossen. Daher ist anzunehmen, dass subtile Variationen in einem oder mehreren Untertests der verwendeten IQ-Tests nicht gemessen werden konnten. Auch in der hier vorliegenden Studie haben die SNPs keinen Einfluss auf den Gesamt-IQ und werden daher als „nicht mit der Intelligenzleistung in Zusammenhang stehend“ bewertet.

Im Gegensatz dazu existieren allerdings Berichte, welche dem chromosomalen Bereich um *MICAL2*, *PARVA*, *MICALCL* und *MIR6124* eine pathologische Komponente zuweisen. Eine Duplikation dieses genomischen Bereiches wurde mit intellektuellen Problemen und Entwicklungsverzögerungen in Zusammenhang gebracht (Kaminsky et al., 2011).

SNP rs3206824 führt zwar einerseits zu einer Mutation im DKK3-Protein, allerdings scheint die Lokalisation nicht in essenziellen Strukturen des Proteins zu liegen. Welcher genaue Mechanismus letztendlich zu den verbesserten Leistungen in den IQ-Untertests führt, bleibt spekulativ.

Neben der Veränderung des Proteins könnte diese in einem translatierbaren Exon liegende Mutation auch auf der Ebene der RNA-Sequenz eine Funktionsveränderung bewirken. Möglicherweise handelt es sich bei der Region um den SNP um einen *exonischen Splicing-Enhancer* (ESE) oder *Silencer* (ESS), der in seiner veränderten Form eine von der ursprünglichen Form abweichende Aktivität zeigt. Daher wurde eine Überprüfung der RNA-Sequenz auf mögliche ESE durchgeführt (Smith et al., 2006; Cartegni et al., 2003). Diese Überprüfung ergab zwei potenzielle Bindungsstellen für Enhancerproteine: 498 CTGRGGG 504 als Bindungsstelle für SRSF1 (Serin-Arginin reicher Splicing Faktor 1) und 496 CGCTGRG 502 als Bindungsstelle für SRSF2. Durch die Bindung von SRSF1 wird die proximale 5' *Splicesite* übersprungen und erst die darauffolgende Stelle verwendet, was zu einer Verlängerung des Exons führt, welches den ESE trägt (Abbildung 8, Seite 60). Durch die Veränderung des

Verhältnisses der beiden Splice-Varianten aufgrund der Mutation in der Enhancersequenz könnte die Konzentration an funktionellem Protein beeinflusst werden.

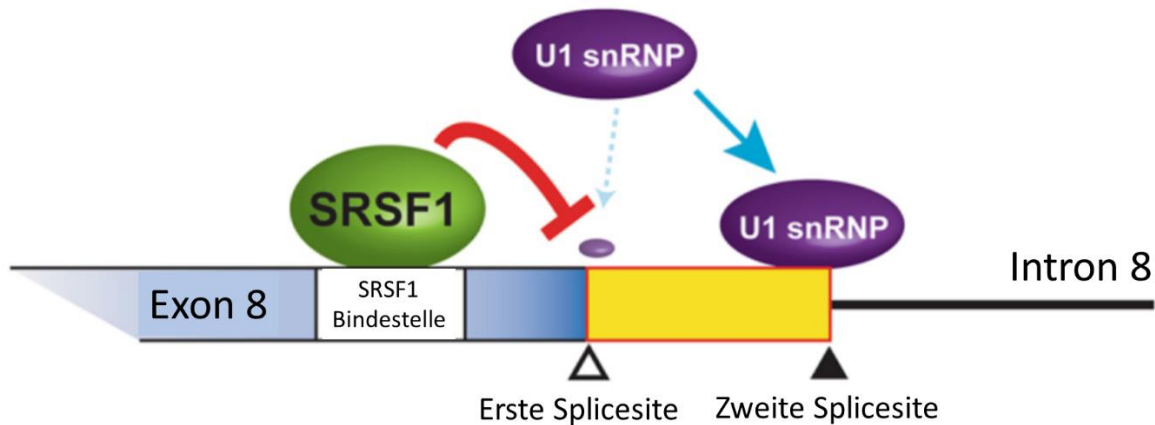


Abbildung 8: Funktion des exonischen Splicing Enhancers in Exon 8 des *DKK3*-Gens

SRSF1: Serin-Arginin reicher Splicingfaktor; U1snRNP: U1 small nuclear Ribonucleotid Particle, Bestandteil des Spliceosoms; durch die Bindung des SRSF1 an seine Bindungsstelle, den exonischen Splicingenhancer in Exon 8, wird das Spliceosom von der ersten Spliceestelle zur nächsten dirigiert, was zu einer Verlängerung des Exons führt (nach Ahsan et al., 2017)

Für den Polymorphismus rs7480000 wurden in dieser Arbeit deutliche Assoziationen zum Untertest „Zahlen nachsprechen“ nachgewiesen. Dieser Untertest misst Funktionen des Arbeitsgedächtnisses (Kurzzeitgedächtnis) und der Aufmerksamkeitsleistung (Tewes, 1994). Die Aufmerksamkeit ist als eine Leistungsvorfeldfunktion bekannt, die stark mit der Intelligenzleistung korreliert. Das Arbeitsgedächtnis hat die Funktion, Informationen unterschiedlicher Sinnesmodalitäten von limitierter Anzahl (7 ± 2) kurzfristig abrufbar zu halten. Das Arbeitsgedächtnis ist hirnanatomisch im präfrontalen Kortex lokalisiert und mit allen höheren kognitiven Funktionen wie Lernen, Planen, insbesondere aber der Intelligenz korrelativ verbunden (Stemmler et al., 2016). Die vorliegenden Befunde stützen somit die Schlussfolgerung, dass das *DKK3* über die Aufmerksamkeits- und Gedächtnisfunktionen indirekt auf Intelligenzleistungen Einfluss nehmen kann. Weiterhin dienen die Ergebnisse im Test „Zahlen nachsprechen“ auch als Hinweis zum Vorliegen von hirnanatomischen Störungen (Tewes, 1994). Er kann demnach u. a. auch als Indikator für frühe Demenzerkrankungen genutzt werden, da diese häufig mit Störungen der Aufmerksamkeit, des Arbeitsgedächtnisses und anderer Exekutivfunktionen verbunden sind (Deutsche Gesellschaft für Neurologie, 2016). Ein Einfluss des *DKK3*-Gens auf diese Funktion kann möglicherweise auch als Hinweis darauf gewertet werden, dass demenzielle Erkrankungen wie die Alzheimer-Demenz ebenfalls mit *DKK3* assoziiert sind.

Die Beeinflussung der Expression anderer Gene, die in der Umgebung von *DKK3* liegen, wurde bereits besprochen. Ein direkter Einfluss des rs7480000 auf *DKK3* ist ebenfalls möglich. Dabei kann es sich aufgrund der intronischen Lage des SNP nicht um eine proteinabhängige Mutation handeln, sondern ist eine regulatorische Funktion, die durch den SNP verändert ist. Neben den ESE gibt es auch intronische Splicing Enhancer (ISE), die den Phänotyp beeinflussen können.

Eine Studie fand erhöhte *DKK3*-Level in verschiedenen Hirnregionen, wie etwa dem Hippocampus, bei Alzheimer-Patienten (Zenzmaier et al., 2009). Der Hippocampus gilt als Zentrum der Verarbeitung von neuen Erfahrungen, Wiedererkennung und Langzeitgedächtnisfunktionen (Vann und Albasser, 2011). Allerdings wurden diese kognitiven Fähigkeiten in der vorliegenden Studie nicht getestet, sodass hierzu keine Schlussfolgerungen gezogen werden können.

Der Einfluss der Wnt-Signalleitungen auf die Neuroplastizität des Hippocampus im Erwachsenenalter wurde bereits nachgewiesen (Varela-Nallar und Inestrosa, 2013). Über diese Verbindung sind die Wnt-Signalwege auch mit Erkrankungen wie Schizophrenie, Major Depression, Autismus und bipolaren Störungen assoziiert (Ftoun et al., 2005, Sani et al., 2012). Ein konkreter Einfluss des *DKK3*-Gens wurde bisher nicht festgestellt, da andere Komponenten und Strukturen der Wnt-Signalwege, wie GSK3 β oder *DKK1*, im Fokus der Forschung standen. Die vorliegende Studie legt aber nahe, dass *DKK3* eine größere Rolle insbesondere bei der Ausprägung von Gedächtnisleistungen und der kognitiven Verarbeitungsgeschwindigkeit innehat und damit möglicherweise sowohl auf allgemeine Intelligenzleistungen als auch auf demenzielle Prozesse einwirkt.

An Assoziationsstudien wurde bereits vielfältig Kritik geäußert. So seien häufig nur geringe Zusammenhänge festgestellt worden, die in späteren Studien aufgrund unterschiedlicher Qualität und Quantität der Stichproben, von Umwelteinflüssen und Messmethodik der Studien nicht repliziert werden konnten (Barnett et al., 2008). Frank und Fossella (2011) schätzen eine Assoziation zwischen einem Kandidatengen und einer Verhaltensweise dann als hoch ein, wenn der in der Empirie festgestellte Zusammenhang auch in der Fachliteratur fundiert ist, wenn die eingesetzte Messmethodik fundiert ist und wenn die Messbedingungen zur Erfassung maximal sensitiv sind.

Werden diese Maßstäbe zur Grundlage einer Bewertung der Studie angelegt, kann eine sichere Schlussfolgerung zur Assoziation von *DKK3* und Intelligenz nicht gezogen werden. Die gefundenen Signifikanzen sind teilweise schwach oder wurden nur als Tendenzen gemessen. Aus der Fachliteratur liegen bislang keine vergleichbaren Studien vor, welche die erhaltenen Indikatoren bestätigen könnten. Die vorhandenen Untersuchungen beruhen auf einer

gänzlich anderen Methodik, sodass die gezogenen Verbindungen und Rückschlüsse durchaus in späteren Studien revidiert werden können. Da die Intelligenz als ein komplexes Merkmal angesehen wird, das nur zum Teil durch genetische Einflüsse bedingt ist, und diese genetischen Einflüsse sich wahrscheinlich auf eine sehr große Anzahl von Einzelgenen mit jeweils nur geringem Wirkungsgrad beziehen (Deary et al., 2010), sind die in der Studie erzielten Ergebnisse durchaus im Rahmen des Erwartbaren und nicht allein auf die Fehlervarianz zurückzuführen.

Die hier vorgestellte Assoziationsstudie zum Einfluss von Polymorphismen des DKK3 auf die kognitive Leistung ist die erste in dieser Form. Aufgrund dessen sind weitere Studien notwendig, um die hier erhaltenen Ergebnisse zu untermauern oder ggf. zu falsifizieren. Insbesondere die als Trends gezeigten Assoziationen bedürfen einer Bestätigung durch Wiederholungsmessungen an ähnlichen Stichproben, damit potenzielle Messfehler ausgeschlossen werden können.

Anhand der Ergebnisse, die mithilfe des Hamburg-Wechsler-Intelligenztests für Erwachsene vorgenommen wurden, ließ sich ein Einfluss von Polymorphismen des DKK3 auf die allgemeine Intelligenz *sensu* Wechsler (1964) bzw. i. S. eines g-Faktors laut Spearman (1904) nicht nachweisen. Demgegenüber konnten einige Korrelationen in spezifischen Untertests festgestellt werden. Möglicherweise könnten Untersuchungen, die statt des HAWIE-R mit Intelligenztests arbeiten, die auf spezifischen unabhängigen Intelligenzfaktoren i. S. von Thurstone (1938) beruhen, noch präzisere Einblicke in das Zusammenhangsgefüge geben. Infrage kommt hierzu beispielsweise der Intelligenzstrukturtest IST-2000R (Liepmann et al., 2007) oder das LPS (Kreuzpointer et al., 2013).

In der vorliegenden Untersuchung wurden Hinweise darauf gefunden, dass das DKK3 Einfluss auf das Arbeitsgedächtnis nimmt. Dieser Einfluss könnte Auswirkungen bei der Ausprägung von Demenzen, insbesondere der Alzheimer-Demenz, haben. Um dieser Fragestellung nachzugehen, sollten demnach vergleichbare Untersuchungen mit einer entsprechenden klinischen Stichprobe von Alzheimer-Patienten und gesunden Kontrollen durchgeführt werden.

Da die Assoziation mit dem Untertest zum Arbeitsgedächtnis aus den erhaltenen signifikanten Ergebnissen vergleichsweise hoch war, wird empfohlen, dass künftige Untersuchungen neben Intelligenztests auch spezifische Tests zum Arbeitsgedächtnis und zu exekutiven Funktionen beinhalten sollten, wie beispielsweise den Wisconsin Card Sorting Test, weiterhin sollten Aufmerksamkeits- und Konzentrationstests eingesetzt werden, so z. B. der Aufmerksamkeits-Belastungstest d2-R und der Alters-Konzentrations-Test AKT (Habel und Schneider, 2017).

Darüber hinaus wäre eine Ausweitung der Fragestellung vom Arbeitsgedächtnis zum Langzeitgedächtnis ebenfalls sinnvoll. Aufgaben zum Langzeitgedächtnis sind in den Untertests des HAWIE-R nicht enthalten. Aufgrund der Befunde verschiedener Untersuchungen, nach denen eine erhöhte Expression von DKK3 im Hippocampus gefunden wurde und diese Hirnregion für die Integration von Gedächtnisleistungen verantwortlich ist, wäre eine solche Studie eine sinnvolle Ergänzung. Aufgrund eines möglichen Zusammenhangs mit Demenzerkrankungen ist eine Ausweitung der Fragestellung auch von besonderer Relevanz. Als Gedächtnistests lassen sich beispielsweise die Wechsler Memory Scale WMS (Wechsler, 1945; aktuelle dt. Version von Petermann und Lepach, 2012) und der Lern- und Gedächtnistest LGT-3 (Bäumler, 1974) anwenden.

6 Literaturverzeichnis

- Abulizi, P., Zhou, X.H., Keyimu, K., Luo, M. und Jin, F.Q. (2017). Correlation between KLOTHO gene and mild cognitive impairment in the Uygur and Han populations of Xinjiang. *Oncotarget* 8(43):75174–75185.
- Ahsan, K.B., Masuda, A., Rahman, M. A., Takeda, J. I., Nazim, M., Ohkawara, B., Ito, M. und Ohno, K. (2017). SRSF1 suppresses selection of intron-distal 5' splice site of DOK7 intron 4 to generate functional full-length Dok-7 protein. *Sci Rep.* 7(1), 10446.
- Alfonso, R. J., Gorroño-Etxebarria, I., Rabano, M., Vivanco, Md. und Kypta, R. (2014). Dickkopf-3 alters the morphological response to retinoic acid during neuronal differentiation of human embryonal carcinoma cells. *Dev Neurobiol.* 74(12), 1243–54.
- Angers, S. und Moon, R. T. (2009). Proximal events in Wnt signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 10(7), 468–77.
- Ardila A. (2018). Culture and Cognitive Testing. In A. Ardila: Historical Development of Human Cognition. 135-159. Signapore: Springer.
- Bahl, C., Singh, N., Behera, D. und Sharma, S. (2017). Association of polymorphisms in Dickkopf (DKK) gene towards modulating risk for lung cancer in north Indians. *Future Oncol*, 13, 213–232.
- Barnett, J.H., Scoriels, L. und Munafo, M.R. (2008). Metaanalysis of the cognitive effects of the catechol-O-transferase gene Val158/108Met polymorphism. *Biol Psychiatry*, 64, 137–144.
- Bäumler, G. (1974). Lern- und Gedächtnistest LGT-3. Göttingen: Hogrefe.
- Belmond, L., Stein, Z.A. und Susser, M.W. (1975). Comparisons of association of birth order with intelligence test score and height. *Nature*, 255, 54–56.
- Bengoa-Vergniory, N. und Kypta, R.M. (2015). Canonical and noncanonical Wnt signaling in neural stem/progenitor cells. *Cell Mol Life Sci.*;72(21):4157–72.
- Binet, A. und Simon, T. (1905). Méthodes nouvelles pour le diagnostique du niveau intellectuel des anormaux. *Année Psychologique*, 11, 191–244.
- Bloem, B., Poorthuis, R.B. und Mansvelder, H.D. (2014). Cholinergic modulation of the medial prefrontal cortex: the role of nicotinic receptors in attention and regulation of neuronal activity. *Front Neural Circuits*, 8:17.
- Bruggink, K.A., Kuiperij, H.B., Gloerich, J., Otte-Höller, I., Rozemuller, A.J., Claassen, J.A., Küsters, B. und Verbeek, M.M. (2015). Dickkopf-related protein 3 is a potential A β -associated protein in Alzheimer's Disease. *J Neurochem.* 134(6), 1152–62.
- Cartegni, L., Wang, J., Zhu, Z., Zhang, M. Q. und Krainer, A. R. (2003). ESEfinder: a web resource to identify exonic splicing enhancers. *Nucleic Acid Research.* 31(13), 3568–3571.
- Cattell, R.B. (1963). The theory of fluid and crystallized intelligence: A critical experiment. *J Edu Psychol*, 54, 1–22.
- Cattell, R.B. und Cattell, A.K.S. (1963). Culture fair intelligence test. Champaign, IL: Institute for Personality and Ability Testing.
- Davies, G. und Piovesana, A. (2015). Adult Verbal Abstract Reasoning Assessment Instruments and their Clinimetric Properties. *Clin Neuropsychol.*;29(7):1010–33.

- De Jager, C.A., Hogervorst, E., Combrinck, M. und Budge, M.M. (2003). Sensitivity and specificity of neuropsychological tests for mild cognitive impairment, vascular cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Psychol Med*, 33, 1039–1050.
- De Leeuw, C.A., Mooij, J.M., Heskes, T. und Posthuma, D. (2015). MAGMA: Generalized Gene-Set Analysis of GWAS Data. *PLoS Computational Biology*, 11(4), e1004219.
- Deary, I., Penke, L. und Johnson, W. (2010). The neuroscience of human intelligence differences. *Nature Rev Neurosci*, 11, 201–211.
- Deutsche Gesellschaft für Neurologie (DGN) (2016). S3 Leitlinie Demenzen. URL: https://www.dgn.org/images/red_leitlinien/LL_2016/PDFs_Download/038013_LL_Demenzen_2016.pdf. Zuletzt aufgerufen am 01.07.2019.
- Dickins, E.M. und Salinas, P.C. (2013). Wnts in action: from synapse formation to synaptic maintenance. *Front Cell Neurosci*. 7:162.
- Dueñas, A., Aranega, A.E. und Franco, D. (2017). More than Just a Simple Cardiac Envelope; Cellular Contributions of the Epicardium. *Front Cell Dev Biol.*; 5:44.
- Frank, M.J. und Fossella, J.A. (2011). Neurogenetics and pharmacology of learning, motivation, and cognition. *Neuropsychopharmacol*, 36, 133–152.
- Ftough, S., Akbar, M.T., Hirsch, S.R. und de Belleruche, J.S. (2005). Down-regulation of Dickkopf 3, a regulator of the Wnt signalling pathway, in elderly schizophrenic subjects. *J Neurochem*, 94(2), 520–530.
- Genç, E., Fraenz, C., Schlüter, C., Friedrich, P., Hossiep, R., Voelkle, M.C., Ling, J.M., Güntürkün, O. und Jung, R.E. (2018). Diffusion markers of dendritic density and arborization in gray matter predict differences in intelligence. *Nat Commun.*;9(1):1905.
- Goggolidou, P. (2014). Wnt and planar cell polarity signaling in cystic renal disease. *Organogenesis*.;10(1):86–95.
- Gottfredson, L.S. (1997). Mainstream science on intelligence: An editorial with 52 signatories, history, and bibliography. *Intelligence*; 24(1), 13–23.
- Greenwood, P.M. und Parasuraman, R. (2003). Normal genetic variation, cognition, and aging. *Behav Cogn Neurosc Rev*, 2(4), 278–306.
- Guder, C., Pinho, S., Nacak, T.G., Schmidt, H.A., Hobmayer, B., Niehrs, C. und Holstein, T.W. (2006). An ancient Wnt-Dickkopf antagonism in Hydra. *Development*, 133, 901–911.
- Guha, S., Rosenfeld, J. A., Malhotra, A. K., Lee, A. T., Gregersen, P. K., Kane, J. M., Itisk, P., Darvasi, A. und Lencz, T. (2012). Implications for health and disease in the genetic signature of the Ashkenazi Jewish population. *Genome Biology*, 13(1), R2. <http://doi.org/10.1186/gb-2012-13-1-r2>.
- Guilford, J.P. (1967). *The Nature of Human Intelligence*. Columbus, OH: McGraw-Hill.
- Guillot, C.R., Fanning, J.R., Liang, T. und Berman, M.E. (2015). COMT Associations with Disordered Gambling and Drinking Measures. *J Gambl Stud.*;31(2):513–24.
- Habel, U., Schneider, F. (2017). Testpsychologische Untersuchungen. In: Schneider, F. (Hg.) *Facharztwissen Psychiatrie, Psychosomatik und Psychotherapie*. 2. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer. S. 55–70.
- Hamzehzadeh, L., Caraglia, M., Atkin, S.L. und Sahebkar, A. (2018). Dickkopf homolog 3 (DKK3): A candidate for detection and treatment of cancers? *J Cell Physiol.*;233(6):4595–4605.

- Haupt, T.C. (2008). HAWIE-R Hamburger Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene -Revision 1991. Internetquelle: https://www.brainguide.de/upload/publication/b9/24145/db62909700997252165b2d635ea325a7_1311687076.pdf, Zuletzt abgerufen am 01.07.2019.
- Herrnstein, R. und Murray, C. (1994). *The Bell Curve – Intelligence and Class Structure in America*. Free Press, Ohne Ort.
- Hirata, H., Hinoda, Y., Nakajima, K., Kikuno, N., Yamamura, S., Kawakami, K., Suehiro, Y., Tabatabai, Z.L., Ishii, N. und Dahiya, R. (2009). Wnt antagonist gene polymorphisms and renal cancer. *Cancer*, 115(19), 4488–4503.
- Hoseth, E.Z., Krull, F., Dieset, I., Mørch, R.H., Hope, S., Gardsjord, E.S., Steen, N.E., Melle, I., Brattbakk, H.R., Steen, V.M., Aukrust, P., Djurovic, S., Andreassen, O.A. und Ueland, T. (2018). Exploring the Wnt signaling pathway in schizophrenia and bipolar disorder. *Transl Psychiatry*. 8(1):55.
- Humphries, A.C. und Mlodzik, M. (2018). From instruction to output: Wnt/PCP signaling in development and cancer. *Curr Opin Cell Biol.*;51:110–116.
- Inestrosa, N.C. und Varela-Nallar, L. (2015). Wnt signalling in neuronal differentiation and development. *Cell Tissue Res.*;359(1):215–23.
- Inoue, J., Fujita, H., Bando, T., Kondo, Y., Kumon, H. und Ohuchi, H. (2017). Expression analysis of Dickkopf-related protein 3 (Dkk3) suggests its pleiotropic roles for a secretory glycoprotein in adult mouse. *J Mol Histol.*;48(1):29–39.
- Jäger, A.O. (1982). Mehrmodale Klassifikation von Intelligenzleistungen. Experimentell kontrollierte Weiterentwicklung eines deskriptiven Intelligenzstrukturmodells. *Diagnostica*, 28, 195–226.
- Justin Cook, C. und Fletcher, J.M. (2015). Understanding heterogeneity in the effects of birth weight on adult cognition and wages. *J Health Econ.*;41:107–16.
- Kaminsky, E.B., Kaul, V., Paschall, J., Church, D.M., Bunke, B., Kunig, D., Moreno-De-Luca, D. Moreno-De-Luca, A., Mülle, J.G., Warren, S.T., Richard, G., Compton, J.G., Fuller, A.E., Gliem, T.J., Huang, S., Collinson, M.N., Beal, S.J., Ackley, T., Pickering, D.L., Golden, D.M., Aston, E., Whitby, H., Shetty, S., Rossi, M.R., Rudd, K., South, S.T., Brothman, A.R., Sanger, W.G., Iyer, R.K., Crolla, J.A., Thorland, E.C., Aradhya, S., Ledbetter, D.H. und Martin, C. L. (2011). An evidence-based approach to establish the functional and clinical significance of CNVs in intellectual and developmental disabilities. *Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics*, 13(9), 777–784.
- Khan, M.A., Khan, S., Windpassinger, C., Badar, M., Nawaz, Z., und Mohammad, R.M. (2016). The Molecular Genetics of Autosomal Recessive Nonsyndromic Intellectual Disability: a Mutational Continuum and Future Recommendations. *Ann Hum Genet*, 80, 342–368.
- Killick, R., Ribe, E.M., Al-Shawi, R., Malik, B., Hooper, C., Fernandes, C., Dobson, R., Nolan, P.M., Lourdasamy, A., Furney, S., Lin, K., Breen, G., Wroe, R., To, A.W., Leroy, K., Causevic, M., Usardi, A., Robinson, M., Noble, W., Williamson, R., Lunnon, K., Kellie, S., Reynolds, C.H., Bazenet, C., Hodges, A., Brion, J.P., Stephenson, J., Simons, J.P. und Lovestone, S. (2014). Clusterin regulates β -amyloid toxicity via Dickkopf-1-driven induction of the wnt-PCP-JNK pathway. *Mol Psychiatry*, 19, 88–98.
- Kirkpatrick, R.M., McGue, M., Iacono, W.G., Miller, M.B. und Basu, S. (2014). Results of a "GWAS plus:" general cognitive ability is substantially heritable and massively polygenic. *PLoS One.*;9(11): e112390.
- Knudsen, E.I. (2007). Fundamental components of attention. *Annu Rev Neurosci*, 30, 57–78.

- Kohn, A. D. und Moon, R. T. (2005). Wnt and Calcium signaling: β -catenin-independent pathways. *Cell Calcium*, 38, 439–446.
- Krch, D., Lequerica, A., Arango-Lasprilla, J.C., Rogers, H.L., DeLuca, J. und Chiaravalloti, N.D. (2015). The Multidimensional Influence of Acculturation on Digit Symbol-Coding and Wisconsin Card Sorting Test in Hispanics. *Clin Neuropsychol.*;29(5):624–38.
- Kreuzpointner, L., Lukesch, H. und Horn, W. (2013). LPS-2 Leistungsprüfsystem 2. Göttingen: Hogrefe.
- Krupnik, V.E., Sharp, J.D., Jiang, C., Robison, K., Chickering, T.W., Amaravadi, L., Brown, D.E., Guyot, D., Mays, G., Leiby, K., Chang, B., Duong, T., Goodearl, A.D., Gearing, D.P., Sokol, S.Y. und McCarthy, S.A. (1999). Functional and structural diversity of the human Dickkopf gene family. *Gene*, 238(2), 301–313.
- Lebel, C., Mattson, S.N., Riley, E.P., Jones, K.L., Adnams, C.M., May, P.A., Bookheimer, S.Y., O'Connor, M.J., Narr, K.L., Kan, E., Abaryan, Z. und Sowell, E.R. (2012). A longitudinal study of the long-term consequences of drinking during pregnancy: heavy in utero alcohol exposure disrupts the normal processes of brain development. *J Neurosci.* 32(44), 15243–51.
- Li, E. und Zhang, Y. (2014). DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* May 6(5), a019133.
- Li, X., Kim, Y., Tsang, E.K., Davis, J.R., Damani, F.N., Chiang, C., Hess, G.T., Zappala, Z., Strober, B.J., Scott, A.J., Li, A., Ganna, A., Bassik, M.C., Merker, J.D.; GTEx Consortium; Laboratory, Data Analysis Coordinating Center (LDACC) – Analysis Working Group; Statistical Methods groups – Analysis Working Group; Enhancing GTEx (eGTEx) groups; NIH Common Fund; NIH/NCI; NIH/NHGRI; NIH/NIMH; NIH/NIDA; Biospecimen Collection Source Site – NDRI; Biospecimen Collection Source Site – RPCI; Biospecimen Core Resource – VARI; Brain Bank Repository – University of Miami Brain Endowment Bank; Leidos Biomedical – Project Management; ELSI Study; Genome Browser Data Integration und Visualization – EBI; Genome Browser Data Integration und Visualization – UCSC Genomics Institute, University of California Santa Cruz, Hall, I.M., Battle, A. und Montgomery, S.B. (2017a). The impact of rare variation on gene expression across tissues. *Nature.* 550(7675), 239–243.
- Li, Y., Liu, H., Liang, Y., Peng, P., Ma, X. und Zhang, X. (2017b). DKK3 regulates cell proliferation, apoptosis and collagen synthesis in keloid fibroblasts via TGF- β 1/Smad signaling pathway. *Biomed Pharmacother.* 91, 174–180.
- Libro, R., Bramanti, P. und Mazzon, E. (2016). The role of the Wnt canonical signaling in neurodegenerative diseases. *Life Sci.*;158:78–88.
- Liepmann, D., Beauducel, A., Brocke, B. und Amthauer, R. (2007). I-S-T 2000 R; Intelligenz-Struktur-Test 2000 R. 2., erweiterte und überarbeitete Auflage. Göttingen: Hogrefe.
- Lieven, O., Knobloch, J. und Rütger, U. (2010). The regulation of Dkk1 expression during embryonic development. *Dev Biol.*;340(2):256–68.
- Liu, J. und Lynn, R. (2015). Chinese sex differences in intelligence: Some new evidence. *Pers Individ Dif.*;75:90–93.
- Lo-Castro, A. und Curatolo, P. (2014). Epilepsy associated with autism and attention deficit hyperactivity disorder: is there a genetic link? *Brain Dev.* 36(3), 185–93.
- Logan, C.Y. und Nusse, R. (2004). The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 20, 781–810.
- McDaniel, M.A. (2005). Big-brained people are smarter: A meta-analysis of the relationship between in vivo brain volume and intelligence. *Intelligence*, 33, 337–346.

- Molyneaux, B.J., Arlotta, P., Fame, R.M., MacDonald, J.L., MacQuarrie, K.L. und Macklis, J.D. (2009). Novel subtype-specific genes identify distinct subpopulations of callosal projection neurons. *J Neurosci*, 29(39), 12343–12354.
- Müller, S. (2009). Die Geschichte des Intelligenz-Begriffs und die aktuelle Debatte zum Enhancement der Intelligenz. In: D. Groß, A. Kronenberg (Hg). *Medizingeschichte im Rheinland*. Kassel: Kassel University Press. 69–104.
- Mullis, K.B. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am*, 262(4), 56–65.
- Myers, D.G. (2014). *Psychologie*. 3. Auflage. Berlin: Springer. S. 413.
- Narr, K.L., Woods, R.P., Thompson, P.M., Szeszko, P., Robinson, D., Dimtcheva, T., Gurbani, M., Toga, A.W. und Bilder, R.M. (2007). Relationships between IQ and regional cortical gray matter thickness in healthy adults. *Cereb Cortex*, 17, 2163–2171.
- NCBI (2017a): rs3206824. Internetquelle: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=3206824 , zuletzt abgerufen am 01.07.2019.
- NCBI (2017b): rs7480000. Internetquelle: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=7480000 , zuletzt abgerufen am 01.07.2019.
- NCBI (2017c). Lage des DKK3 Gens auf Chromosom 11. Internetquelle: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/27122> , zuletzt abgerufen am 01.07.2019.
- Newman, H.H., Tellegen, A. und Bouchard, T.J. (1998). Individual differences in adult ago development: Sources of influence in twins reared apart. *J Pers Soc Psychol*, 74, 985–995.
- Niehrs, C. (2006). Function and biological roles of the Dickkopf family of Wnt modulators. *Oncogene*, 25, 7469–7481.
- Nisbett, R.E., Aronson, J., Blair, C., Dickens, W., Flynn, J., Halpern, D.F und Turkheimer, E. (2012). Intelligence: new findings and theoretical developments. *Am. Psychol*. 67(2):130–59.
- Nusse, R. The Wnt Targets. – The Wnt Homepage. Internetquelle: https://web.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/target_genes zuletzt abgerufen am 01.07.2019.
- Ogata, S., Kato, K., Honda, C. und Hayakawa, K. (2014). Common Genetic Factors Influence Hand Strength, Processing Speed, and Working Memory. *J Epidemiol*, 24(1), 31–38.
- Oliva, C.A., Vargas, J.Y. und Inestrosa, N.C. (2013). Wnts in adult brain: from synaptic plasticity to cognitive deficiencies. *Front Cell Neurosci*, 7, 224.
- Peng, H., Wen, J., Wang, D. und Gao, Y. (2012). The impact of processing speed training on working memory in old adults. *J Adult Dev*, 19, 150–157.
- Petermann, F. (2012). *Wechsler Adult Intelligence Scale – Fourth Edition (WAIS-IV) Manual 1: Grundlagen, Testauswertung und Interpretation*. Frankfurt: Pearson Assessment.
- Petermann, F. und Lepach, A.C. (2012). *Wechsler Memory Scale - Fourth Edition, German Edition. Manual*. Frankfurt: Pearson Assessment.
- Plomin, R., Deary, I.J. (2015). Genetics and intelligence differences: five special findings. *Mol Psychiatry*;20(1):98–108.

- Prinsloo, M. Barrett, P. (2013). Cognition: Theory, Measurement, Implications. Integral Leadership Review. <http://integralleadershipreview.com/9270-cognition-theory-measurement-implications/> , zuletzt abgerufen am 01.07.2019.
- Pschyrembel (2017). Klinisches Wörterbuch. 267. Auflage. Berlin, New York: Walter de Gruyter.
- Purro, S.A., Galli, S. und Salinas, P.C. (2014). Dysfunction of Wnt signaling and synaptic disassembly in neurodegenerative diseases. *J Mol Cell Biol.*;6(1):75-80.
- Qiagen (2005). QIAamp® DNA Blood Midi/Maxi Handbook. 2. Auflage. Hilden: Qiagen.
- Raven, J.C. (1971). Guide to the standard progressive matrices. Sets A, B, C, D, and E. London: Lewis und Co.
- Rengarajan, K., Cristol, S.M., Mehta, M. und Nickerson, J.M. (2002). Quantifying DNA concentrations using fluorometry: a comparison of fluorophores. *Mol Vis*, 8, 416–421.
- Rietveld, C.A., Medland, S.E., Derringer, J., Yang, J., Esko, T., Martin, N.W., Westra, H.J., Shakhbazov, K., Abdellaoui, A., Agrawal, A., Albrecht, E., Alizadeh, B.Z., Amin, N., Barnard, J., Baumeister, S.E., Benke, K.S., Bielak, L.F., Boatman, J.A., Boyle, P.A., Davies, G., de Leeuw, C., Eklund, N., Evans, D.S., Ferhmann, R., Fischer, K., Gieger, C., Gjessing, H.K., Hägg, S., Harris, J.R., Hayward, C., Holzapfel, C., Ibrahim-Verbaas, C.A., Ingelsson, E., Jacobsson, B., Joshi, P.K., Jugessur, A., Kaakinen, M., Kanoni, S., Karjalainen, J., Kolcic, I., Kristiansson, K., Kutalik, Z., Lahti, J., Lee, S.H., Lin, P., Lind, P.A., Liu, Y., Lohman, K., Lottfelder, M., McMahon, G., Vidal, P.M., Meirelles, O., Milani, L., Myhre, R., Nuotio, M.L., Oldmeadow, C.J., Petrovic, K.E., Peyrot, W.J., Polasek, O., Quaye, L., Reinmaa, E., Rice, J.P., Rizzi, T.S., Schmidt, H., Schmidt, R., Smith, A.V., Smith, J.A., Tanaka, T., Terracciano, A., van der Loos, M.J., Vitart, V., Völzke, H., Wellmann, J., Yu, L., Zhao, W., Allik, J., Attia, J.R., Bandinelli, S., Bastardot, F., Beauchamp, J., Bennett, D.A., Berger, K., Bierut, L.J., Boomsma, D.I., Bültmann, U., Campbell, H., Chabris, C.F., Cherkas, L., Chung, M.K., Cucca, F., de Andrade, M., De Jager, P.L., De Neve, J.E., Deary, I.J., Dedoussis, G.V., Deloukas, P., Dimitriou, M., Eiríksdóttir, G., Elderson, M.F., Eriksson, J.G., Evans, D.M., Faul, J.D., Ferrucci, L., Garcia, M.E., Grönberg, H., Guðnason, V., Hall, P., Harris, J.M., Harris, T.B., Hastie, N.D., Heath, A.C., Hernandez, D.G., Hoffmann, W., Hofman, A., Holle, R., Holliday, E.G., Hottenga, J.J., Iacono, W.G., Illig, T., Järvelin, M.R., Kähönen, M., Kaprio, J., Kirkpatrick, R.M., Kowgier, M., Latvala, A., Launer, L.J., Lawlor, D.A., Lehtimäki, T., Li, J., Lichtenstein, P., Lichtner, P., Liewald, D.C., Madden, P.A., Magnusson, P.K., Mäkinen, T.E., Masala, M., McGue, M., Metspalu, A., Mielck, A., Miller, M.B., Montgomery, G.W., Mukherjee, S., Nyholt, D.R., Oostra, B.A., Palmer, L.J., Palotie, A., Penninx, B.W., Perola, M., Peyser, P.A., Preisig, M., Rääkkönen, K., Raitakari, O.T., Realo, A., Ring, S.M., Ripatti, S., Rivadeneira, F., Rudan, I., Rustichini, A., Salomaa, V., Sarin, A.P., Schlessinger, D., Scott, R.J., Snieder, H., St Pourcain, B., Starr, J.M., Sul, J.H., Surakka, I., Svento, R., Teumer, A.; LifeLines Cohort Study, Tiemeier, H., van Rooij, F.J., Van Wagener, D.R., Vartiainen, E., Viikari, J., Vollenweider, P., Vonk, J.M., Waeber, G., Weir, D.R., Wichmann, H.E., Widen, E., Willemsen, G., Wilson, J.F., Wright, A.F., Conley, D., Davey-Smith, G., Franke, L., Groenen, P.J., Hofman, A., Johannesson, M., Kardia, S.L., Krueger, R.F., Laibson, D., Martin, N.G., Meyer, M.N., Posthuma, D., Thurik, A.R., Timpson, N.J., Uitterlinden, A.G., van Duijn, C.M., Visscher, P.M., Benjamin, D.J., Cesarini, D. und Koellinger, P.D. (2013). GWAS of 126,559 individuals identifies genetic variants associated with educational attainment. *Science*. 340(6139):1467–71.

- Romero, D., Al-Shareef, Z., Gorroño-Etxebarria, I., Atkins, S., Turrell, F., Chhetri, J., Bengoa-Vergniory, N., Zenzmaier, C., Berger, P., Waxman, J. und Kypta, R. (2016). Dickkopf-3 regulates prostate epithelial cell acinar morphogenesis and prostate cancer cell invasion by limiting TGF- β -dependent activation of matrix metalloproteases. *Carcinogenesis*. 37(1), 18–29.
- Roth, M. und Herzberg, P.Y. (2008). Psychodiagnostik in der Praxis: State of the Art? *Klinische Diagnostik und Evaluation*, 1, 5–18.
- Rutter, M. (1998). Developmental catch-up, and deficit, following adoption after severe global early privation. English and Romanian Adoptees (ERA) Study Team. *J Child Psychol Psychiatry*. 39(4), 465–76.
- Sadaghiani, S., Ng, B., Altmann, A., Poline, J.B., Banaschewski, T., Bokde, A.L.W., Bromberg, U., Büchel, C., Burke Quinlan, E., Conrod, P., Desrivières, S., Flor, H., Frouin, V., Garavan, H., Gowland, P., Gallinat, J., Heinz, A., Ittermann, B., Martinot, J.L., Paillère Martinot, M.L., Lemaître, H., Nees, F., Papadopoulos Orfanos, D., Paus, T., Poustka, L., Millenet, S., Fröhner, J.H., Smolka, M.N., Walter, H., Whelan, R., Schumann, G., Napolioni, V. und Greicius, M. (2017). Overdominant Effect of a CHRNA4 Polymorphism on Cingulo-Opercular Network Activity and Cognitive Control. *J Neurosci.*;37(40):9657–9666.
- Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A. und Arnheim, N. (1985). Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230(4732), 1350–1354.
- Sani, G., Napoletano, F., Forte, A.M., Kotzolidis, G.D., Panaccione, I., Porfiri, G.M., Simonetti, A., Caloro, M., Girardi, N., Telesforo, D.L., Serra, G., Romano, S., Manfredi, G., Savoia, V., Tamorri, S.M., Koukopoulos, A.E., Serata, D., Rapinesi, D., Del Casale, A., Nicoletti, F. und Girardi, P. (2012). The Wnt Pathway in Mood Disorders. *Curr Pharmacol*, 10, 239–253.
- Savage, J.E., Jansen, P.R., Stringer, S., Watanabe, K., Bryois, J., de Leeuw, C.A., Nagel, M., Awasthi, S., Barr, P.B., Coleman, J.R.I., Grasby, K.L., Hammerschlag, A.R., Kaminski, J.A., Karlsson, R., Krapohl, E., Lam, M., Nygaard, M., Reynolds, C.A., Trampush, J.W., Young, H., Zabaneh, D., Hägg, S., Hansell, N.K., Karlsson, I.K., Linnarsson, S., Montgomery, G.W., Muñoz-Manchado, A.B., Quinlan, E.B., Schumann, G., Skene, N.G., Webb, B.T., White, T., Arking, D.E., Avramopoulos, D., Bilder, R.M., Bitsios, P., Burdick, K.E., Cannon, T.D., Chiba-Falek, O., Christoforou, A., Cirulli, E.T., Congdon, E., Corvin, A., Davies, G., Deary, I.J., DeRosse, P., Dickinson, D., Djurovic, S., Donohoe, G., Conley, E.D., Eriksson, J.G., Espeseth, T., Freimer, N.A., Giakoumaki, S., Giegling, I., Gill, M., Glahn, D.C., Hariri, A.R., Hatzimanolis, A., Keller, M.C., Knowles, E., Koltai, D., Konte, B., Lahti, J., Le Hellard, S., Lencz, T., Liewald, D.C., London, E., Lundervold, A.J., Malhotra, A.K., Melle, I., Morris, D., Need, A.C., Ollier, W., Palotie, A., Payton, A., Pendleton, N., Poldrack, R.A., Rääkkönen, K., Reinvang, I., Roussos, P., Rujescu, D., Sabb, F.W., Scult, M.A., Smeland, O.B., Smyrnis, N., Starr, J.M., Steen, V.M., Stefanis, N.C., Straub, R.E., Sundet, K., Tiemeier, H., Voineskos, A.N., Weinberger, D.R., Widen, E., Yu, J., Abecasis, G., Andreassen, O.A., Breen, G., Christiansen, L., Debrabant, B., Dick, D.M., Heinz, A., Hjerling-Leffler, J., Ikram, M.A., Kendler, K.S., Martin, N.G., Medland, S.E., Pedersen, N.L., Plomin, R., Polderman, T.J.C., Ripke, S., van der Sluis, S., Sullivan, P.F., Vrieze, S.I., Wright, M.J. und Posthuma, D. (2018). Genome-wide association meta-analysis in 269,867 individuals identifies new genetic and functional links to intelligence. *Nat Genet*. 50(7):912–919.
- Shao, Y.C., Wei, Y., Liu, J.F. und Xu, X.Y. (2017). The role of Dickkopf family in cancers: from Bench to Bedside. *Am J Cancer Res.*;7(9):1754–1768.

- Sharma, G., Sharma, A.R., Seo, E.M. und Nam, J.S. (2015). Genetic polymorphism in extra-cellular regulators of Wnt signaling pathway. *Biomed Res Int.*;2015:847529. doi: 10.1155/2015/847529.
- Sigurdardottir, H.L., Kranz, G.S., Rami-Mark, C., James, G.M., Vanicek, T., Gryglewski, G., Kautzky, A., Hienert, M., Traub-Weidinger, T., Mitterhauser, M., Wadsak, W., Hacker, M., Rujescu, D., Kasper, S. und Lanzenberger, R. (2016). Effects of norepinephrine transporter gene variants on NET binding in ADHD and healthy controls investigated by PET. *Hum Brain Mapp.* 37(3):884–95.
- Smith, P. J., Zhang, C., Wang, J. Chew, S. L., Zhang, M. Q. und Krainer, A. R. (2006). An increased specificity score matrix for the prediction of SF2/ASF-specific exonic splicing enhancers. *Hum Mol Genet.* 15(16), 2490–2508.
- Sniekers, S., Stringer, S., Watanabe, K., Jansen, P. R., Coleman, J. R. I., Krapohl, E., Taskesen, E., Hammerschlag, A. R., Okbay, A., Zabaneh, D., Amin, N., Breen, G., Cesarini, Dm., Chabris, C. F., Iacono, W. G., Ikram, M. A., Johannesson, M., Koellinger, P., Lee, J. J., Magnusson, P. K. E., McGue, M., Miller, M. B., Ollier, W. E. R., Payton, A., Pendleton, N., Plomin, R., Rietveld, C. A., Tiemeier, H., van Duijn, C. M. und Posthuma, D. (2017). Genome-wide association meta-analysis of 78,308 individuals identifies new loci and genes influencing human intelligence. *Nat Genet.*;49(7):1107–1112.
- Snow, P.J. (2016). The Structural and Functional Organization of Cognition. *Front Hum Neurosci.*;10:501.
- Song, J.L., Nigam, P., Tektas, S.S. und Selva, E. (2015). microRNA regulation of Wnt signaling pathways in development and disease. *Cell Signal.*; 27(7):1380–91.
- Spearman, C. (1904). „General intelligence“, objectively determined and measured. *Am J Psychol*, 15, 201–293.
- Stemmler, G., Hagemann, D., Amelang, M. und Spinath F.M. (2016). *Differentielle Psychologie und Persönlichkeitsforschung*. 8. Auflage. Stuttgart, Berlin, Köln: Kohlhammer.
- Stern, E. und Neubauer, A. (2016). Intelligenz: kein Mythos, sondern Realität. *Psychologische Rundschau*, 67, 15–27.
- Stern, W. (1912). *Die psychologischen Methoden der Intelligenzprüfung und deren Anwendung an Schulkindern*. Leipzig: Johann Ambrosius Barth.
- Tewes, U. (1994). *HAWIE-R. Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene. Revision 1991. Handbuch und Testanweisung*. Bern: Huber.
- The International HapMap Consortium (2003). The International HapMap Project. *Nature* 426, 789–796.
- Thurstone, L.L. (1938). *Primary and mental abilities*. Chicago, Ill.: The University of Chicago Press.
- Thurstone, L.L. und Thurstone, T.G. (1941). *Factorial studies of intelligence*. Chicago, Ill.: The University of Chicago Press.

- Trampush, J.W., Yang, M.L., Yu, J., Knowles, E., Davies, G., Liewald, D.C., Starr, J.M., Djurovic, S., Melle, I., Sundet, K., Christoforou, A., Reinvang, I., DeRosse, P., Lundersvold, A.J., Steen, V.M., Espeseth, T., Räikkönen, K., Widen, E., Palotie, A., Eriksson, J.G., Giegling, I., Konte, B., Roussos, P., Giakoumaki, S., Burdick, K.E., Payton, A., Ollier, W., Horan, M., Chiba-Falek, O., Attix, D.K., Need, A.C., Cirulli, E.T., Voineskos, A.N., Stefanis, N.C., Avramopoulos, D., Hatzimanolis, A., Arking, D.E., Smyrnis, N., Bilder, R.M., Freimer, N.A., Cannon, T.D., London, E., Poldrack, R.A., Sabb, F.W., Congdon, E., Conley, E.D., Scult, M.A., Dickinson, D., Straub, R.E., Donohoe, G., Morris, D., Corvin, A., Gill, M., Hariri, A.R., Weinberger, D.R., Pendleton, N., Bitsios, P., Rujescu, D., Lahti, J., Le Hellard, S., Keller, M.C., Andreassen, O.A., Deary, I.J., Glahn, D.C., Malhotra, A.K. und Lencz, T. (2017). GWAS meta-analysis reveals novel loci and genetic correlates for general cognitive function: a report from the COGENT consortium. *Mol Psychiatry*. 22(3):336-345. Erratum in: *Mol Psychiatry*. 2017 Nov;22(11):1651-1652.
- Vaklavas, C., Blume, S. W. und Grizzle, W. E. (2017). Translational Dysregulation in Cancer: Molecular Insights and Potential Clinical Applications in Biomarker Development. *Front Oncol*. 7, 158.
- Vann, S.D. und Albasser, M.M. (2011). Hippocampus and neocortex: recognition and spatial memory. *Curr Opin Neurobiol*, 21(3), 440–445.
- Varela-Nallar, L. und Inestrosa, N.C. (2013). Wnt signaling in the regulation of adult hippocampal neurogenesis. *Front Cell Neurosci*, 7,:100. doi: 10.3389/fncel.2013.00100.
- Veeman, M. T., Axelrod, J. D. und Moon, R. T. (2003). A second canon. Functions and mechanisms of beta-catenin-independent Wnt signaling. *Dev Cell*, 5, 367–377.
- Velasco, I., Bath, S.C. und Rayman, M.P. (2018). Iodine as Essential Nutrient during the First 1000 Days of Life. *Nutrients*. Mar 1;10(3). pii: E290.
- Waber, D.P., Bryce, C.P., Girard, J.M., Zichlin, M., Fitzmaurice, G.M. und Galler, J.R. (2014). Impaired IQ and academic skills in adults who experienced moderate to severe infantile malnutrition: a 40-year study. *Nutr Neurosci*.;17(2):58–64.
- Wechsler, D. (1945). Wechsler Memory Scale. Manual. San Antonio, TX: The Psychological Corporation.
- Wechsler, D. (1958). The measurement and appraisal of adult intelligence. Baltimore: Williams und Wilkins.
- Wechsler, D. (1964). Die Messung der Intelligenz Erwachsener. Textband zum Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene (HAWIE). Bern: Huber.
- Weiß, H.R. (2006). Grundintelligenztest Skala 2 - Revision (CFT 20-R) mit Wortschatztest und Zahlenfolgentest - Revision (WS/ZF-R). Göttingen: Hogrefe Verlag.
- Wiese, K.E., Nüsse, R. und van Amerongen, R. (2018). Wnt signalling: conquering complexity. *Development*.;145(12). pii: dev165902.
- Winick, M., Meyer, K.K. und Harris, R.C. (1975). Malnutrition and environmental enrichment by early adoption, *Science*, 190, 1173–1175.
- Wu, J., Zhang, J., Zhan, Z., Cao, Q. und Li, Z. (2016). Genetic variations of DICKKOPF family genes might not be associated with gastric cancer susceptibility. *BMC Gastroenterol*, 16(1): 78.
- Xu, Q., Fu, J., Liu, F., Qin, W., Liu, B., Jiang, T. und Yu, C. (2018). Left Parietal Functional Connectivity Mediates the Association Between COMT rs4633 and Verbal Intelligence in Healthy Adults. *Front Neurosci*.;12:233.
- Xu, X. (2015). DNA methylation and cognitive aging. *Oncotarget*. 6(16), 13922–32.

-
- Zenzmaier, C., Marksteiner, J., Kiefer, A., Berger, P. und Humpel, C. (2009). Dkk-3 is elevated in CSF and plasma of Alzheimer's disease patients. *J. Neurochem.*;110:653–661.
- Zenzmaier, C., Sklepos, L. und Berger, P. (2008a). Increase of Dkk-3 blood plasma levels in the elderly. *Exp Gerontol*, 43, 867–870.
- Zenzmaier, C., Untergasser, G., Hermann, M., Dirnhofer, S., Sampson, N. und Berger P. (2008b). Dysregulation of Dkk-3 expression in benign and malignant prostatic tissue. *Prostate*, 68, 540–547.
- Zhang, X., Huang, W.J. und Chen, W.W. (2016). TGF- β 1 factor in the cerebrovascular diseases of Alzheimer's disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 20(24), 5178–5185.
- Zhang, X.L., Xu, G., Zhou, Y. und Yan, J.J. (2018). MicroRNA-183 promotes the proliferation and metastasis of renal cell carcinoma through targeting Dickkopf-related protein 3. *Oncol Lett.*;15(4):6003–6008.
- Zhenilo, S., Khrameeva, E., Tsygankova, S., Zhigalova, N., Mazur, A. und Prokhortchouk, E. (2015). Individual genome sequencing identified a novel enhancer element in exon 7 of the CSFR1 gene by shift of expressed allele ratios. *Gene*. 566(2):223–8.
- Zimbardo, P.G und Gerrig, R.J. (2008). *Psychologie*. 18. Auflage. München: Pearson Studium.

7 Abkürzungsverzeichnis

A	Adenosin
ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätsstörung
AE	Alkohol-Embryopathie
ANOVA	<i>analysis of variance</i> /(einfaktorielle) Varianzanalyse
APC	<i>Adenomatous Polyposis Coli</i>
bp	Basenpaare
C	Cytosin
CFT-20	<i>Culture Fair Intelligence Test</i>
COMT	Catechol-o-methyl-Transferase
d2	Aufmerksamkeits-Belastungstest
Da	Dalton, Molekülmasse
ddNTP	Didesoxynukleotidtriphosphat
df	<i>degrees of freedom</i> /Freiheitsgrade
DKK	Dickkopf Protein/Genprodukt
<i>DKK</i>	Dickkopf Gen
dNTP	Desoxynukleotidtriphosphat
Dsh	Dishevelled
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ESE	exonsicher Splicing Enhancer
F	Kennwert der Varianzanalyse
FAT	<i>nuclear factor of activated T-cells</i> /Transkriptionsfaktoren in T-Lymphozytenkernen
fz	Frizzled
G	Guanin

g	Generalfaktor der Intelligenz
GABA	Gamma-Aminobuttersäure
gc	kristalline Intelligenz
gf	fluide Intelligenz
GSK	Glycogen Synthase Kinase
HAWIE-R	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene, revidierte Fassung
HAWIK	Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Kinder
HCl	Salzsäure
IGF	Insulin-like Growth Factor
IQ	Intelligenzquotient
ISE	intronsicher Splicing Enhancer
IST-70	Intelligenzstrukturtest
Krm	Kremen
LEF	<i>lymphoid enhancer-binding factor</i>
LPS	Leistungsprüfsystem
LRP	<i>low-density lipoprotein receptor-related protein</i>
MCI	<i>mild cognitive impairment</i> / leichte kognitive Störung
mmol	Millimol
MRT	Magnetresonanztomografie
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Probanden in der Stichprobe
NCBI	National Center for Biotechnology Information
p	Wahrscheinlichkeit der Annahme der Nullhypothese
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> /Polymerasekettenreaktion
QTL	<i>quantitative trait locus</i>

r	Korrelationskoeffizient
rpm	Umdrehungen pro Minute
s	spezifische Faktoren der Intelligenz
SD	<i>standard deviation</i> /Standardabweichung
SNP	<i>single nucleotid polymorphism</i> /Basenaustausch-Polymorphismus
SRSF	serinreicher Splicing Faktor
T	Thymin
TGF	transforming Growth Factor
WMS	Wechsler Memory Scale
ZNS	Zentralnervensystem

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste der verwendeten Materialien und Reagenzien	30
Tabelle 2: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die Konzentrationseinstellung	32
Tabelle 3: Verwendete Primerpaare für den jeweiligen SNP	33
Tabelle 4: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die Multiplex-PCR	34
Tabelle 5: Eingesetzte Volumina und Konzentrationen der einzelnen Reagenzien in der Multiplex-PCR am Beispiel eines 10x-Plexes	35
Tabelle 6: PCR-Temperaturprogramm	35
Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte SAP-Reaktion	36
Tabelle 8: Zusammensetzung der Dephosphorylierungs-Reaktion	36
Tabelle 9: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die Multiplex Primerextensionreaktion.....	37
Tabelle 10: Reagenzien für das <i>iPLEX</i> -Verfahren.	37
Tabelle 11: <i>iPLEX</i> -Temperaturprogramm	37
Tabelle 12: Verbrauchsmaterialien, Geräte und Software für die Messung der Extensionsprodukte im MALDT-TOF-MS.	38
Tabelle 13: Häufigkeitsverteilung der Allele von rs3206824	42
Tabelle 14: Assoziation der Allele des rs3206824 zur Intelligenz (HAWIE-R Summenskalen)	42
Tabelle 15: Assoziation der Allele des rs3206824 zur Intelligenz (Rohwerte der 11 Untertests)	43
Tabelle 16: Häufigkeitsverteilung der Genotypen von rs3206824	44
Tabelle 17: Assoziation der Genotypen des rs3206824 zur Intelligenz (HAWIE-R Summenskalen)	44
Tabelle 18: Assoziation der Genotypen des rs3206824 zur Intelligenz (Rohwerte der 11 Untertests)	44
Tabelle 19: Häufigkeitsverteilung der Allele von rs7480000	46

Tabelle 20: Assoziation der Allele des rs7480000 zur Intelligenz (HAWIE-R Summenskalen)	46
Tabelle 21: Assoziation der Allele des rs7480000 zur Intelligenz (Rohwerte der 11 Untertests)	47
Tabelle 22: Häufigkeitsverteilung der Genotypen von rs7480000	47
Tabelle 23: Assoziation der Genotypen des rs7480000 zur Intelligenz (Verbal-IQ, Handlungs-IQ, Gesamt-IQ)	48
Tabelle 24: Assoziation der Genotypen des rs7480000 zur Intelligenz (Rohwerte der 11 Untertests)	49
Tabelle 25: Allelfrequenzen für rs3206824 in unterschiedlichen Populationen (NCBI 2017a)	52
Tabelle 26: Genotypverteilung des rs3206824 in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen	53
Tabelle 27: Abhängigkeit der Intelligenztestwerte von der Variation rs3206824	53
Tabelle 28: Allelfrequenzen für rs7480000 in unterschiedlichen Populationen (NCBI, 2017b)	54
Tabelle 29: Genotypverteilung des rs7480000 in unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen	55
Tabelle 30: Abhängigkeit der Intelligenztestwerte von rs7480000	56

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen einem hypothetischen Gen und einer messbaren Verhaltensweise als Ausdruck kognitiver Funktionen und mögliche Zwischenschritte zwischen Genotyp und Phänotyp (Greenwood und Parasuraman, 2003)	11
Abbildung 2: Die nicht kanonischen Wnt-Signalwege	14
Abbildung 3: Die kanonische Wnt-Signalübertragung	15
Abbildung 4: Die Anordnung der Proteindomänen bei den Genprodukten der DKK-Familie	16
Abbildung 5: Modell der Interaktion der DKK-Gene 1 und 2 bei der Wnt/ β -Catenin-Übertragung	17
Abbildung 6: Studiendesign der empirischen Untersuchung	24
Abbildung 7: Lokalisation von <i>DKK3</i> auf Chromosom 11 und Lage von rs3206824 und rs7480000	41
Abbildung 8: Funktion des exonischen Splicing Enhancers in Exon 8 des <i>DKK3</i> -Gens	60

Selbständigkeitserklärung

Priester, Maria

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema Einfluss von genetischen Polymorphismen im DKK3-Gen auf kognitive Fähigkeiten selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Garsten, 07.05.2020

Maria Priester

Danksagung

Bedanken möchte ich mich an dieser Stelle ganz besonders bei Herrn Prof. H.-J. Möller, dem ehemaligen Leiter der Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität dafür, dass er es mir ermöglicht hat meine Dissertation durchzuführen.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Prof. Dan Rujescu und Frau PD Dr. Ina Giegling bedanken, die es mir erlaubt haben als Doktorandin in der Abteilung für molekulare und klinische Neurobiologie mitzuarbeiten.

Ganz besonders möchte ich mich bei Frau Dr. rer. biol. hum. Heike Konnerth bedanken, die mich während des Praktikums in der Klinik tagtäglich betreut hat und mir alles notwendige beigebracht hat, was für die Studiendurchführung nötig war.

Im selben Zuge möchte ich mir auch bei Frau Dr. rer. biol. hum. Marion Friedl bedanken, die mich ebenfalls präzise eigearbeitet und geduldig beraten hat.

Mein herzlichster Dank gebührt auch Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann, die mir insbesondere bei der schriftlichen Umsetzung dieser Arbeit geholfen hat, immer geduldig war und alles mehrmals Korrektur gelesen hat und mir generell für die Beantwortung vieler Fragen zur Seite gestanden ist.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, deren Unterstützung es erst ermöglicht hat, dass ich diese Dissertation verwirklichen konnte.

Von Herzen möchte ich bei meinem Mann Mag. rer. soc. oec. Markus Priester bedanken, der mich immerwährend unterstützt und motiviert hat. Ich bedanke mich ganz besonders für seine grenzenlose Geduld und seine tatkräftige Unterstützung in allen EDV Fragen.